

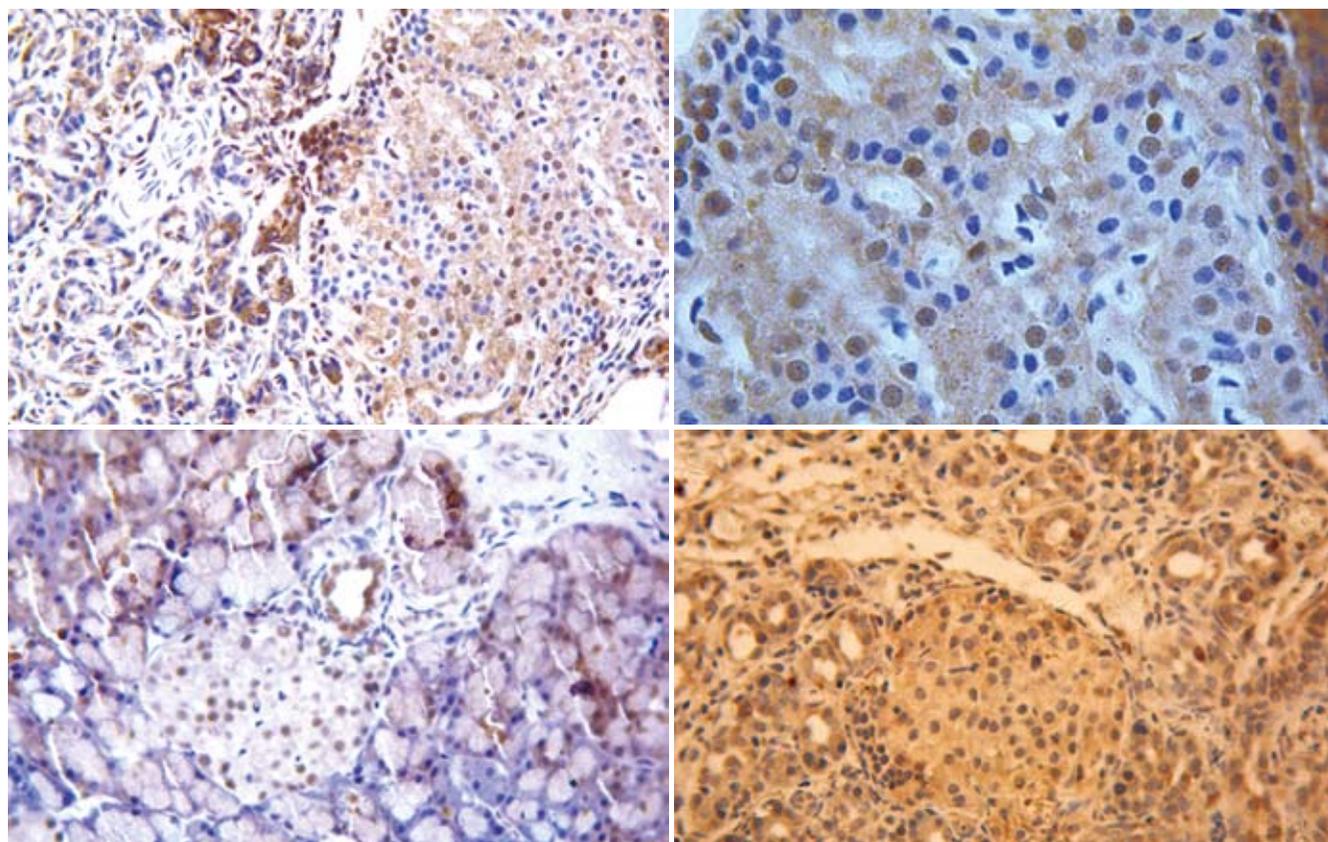
ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2010年5月18日 第18卷 第14期 (Volume 18 Number 14)



14 / 2010

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄象谦教授
黄志强教授
王宝恩教授
危北海研究员
吴孟超教授
杨春波教授
周殿元教授

名誉总编辑

潘伯荣教授

社长/总编辑

马连生教授

副总编辑

纪小龙教授
姜洪池教授
王苑本教授
吴云林教授
徐克成教授
杨思风教授
姚希贤教授
岳茂兴教授
张万岱教授
周学文教授

常务编委

程英升教授
范学工教授
高毅主任医师
江学良主任医师
李岩教授
刘连新教授
吕宾教授
罗和生教授
聂青和教授
王小众教授

编委

消化内科学

白爱平副教授
聂黎明教授
陈洪副教授

陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌副教授
迟宝荣教授
崔立红副教授
邓长生教授
丁士刚主任医师
董蕾教授
杜雅菊主任医师
樊晓明主任医师
房静远教授
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
高峰副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
郭晓钟教授
郝建宇教授
何松教授
洪天配教授
胡伏莲教授
胡和平主任医师
黄晓东副主任医师
黄颖秋教授
黄缘教授
季国忠教授
江米足主任医师
姜春萌教授
姜慧卿教授
金瑞教授
蓝宇教授
李定国教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
李玉明教授
李祖国副教授
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海峰主任医师
刘海林主任医师
刘占举教授
陆伦根教授

马红主任医师
马欣主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴云峰教授
秦成勇教授
任粉玉副教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈守荣教授
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
宋于刚教授
唐世刚教授
田宇彬教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党教授
王晓艳副教授
闻勤生教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐可树教授
许乐主任医师
杨建民教授
姚树坤教授
叶红军主任医师
张春清教授
张国梁主任医师
张军教授
张小晋主任医师
张晓岚教授
张筱茵副教授
张志坚教授
郑培永副教授
郑鹏远教授
郑素军副主任医师
周国雄主任医师
周晓东副教授
朱春兰主任医师
邹晓平主任医师

消化外科学

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈进宏副主任医师
陈力教授
陈立波副教授
陈凜教授
陈强谱教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程爱群主任医师
程树群副教授
仇毓东副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰副主任医师
丁义涛教授
董明教授
房林副教授
傅红副教授
傅华群教授
傅志仁主任医师
葛海燕教授
巩鹏副教授
谷俊朝主任医师
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何超教授
何裕隆教授
黄志勇教授
季加孚教授
英卫东副主任医师
蒋龙元副教授
李国威教授
李华副教授
李华山主任医师
李奇林教授
李胜研究员
李涛副主任医师
李文岗教授

李旭副教授
李永翔主任医师
梁力建教授
刘超副教授
刘建教授
卢实春教授
陆才德教授
禄韶英副主任医师
吕明德教授
吕云福教授
彭吉润主任医师
彭心宇教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民副主任医师
邱宝安主任医师
邱双健副教授
邱伟华副主任医师
裘正军教授
沈柏用副教授
沈世强教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙学英教授
孙延平副主任医师
邵升副教授
汤恢焕教授
田晓峰教授
汪波副主任医师
汪根树副教授
王春友教授
王德盛副主任医师
王凤山教授
王广义教授
王健生教授
王鲁副教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王要军教授
王悦华副主任医师

世界华人消化杂志®

编辑委员会

王振宁教授
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
吴河水教授
吴健雄教授
吴金术教授
吴泰璜教授
吴志勇教授
谢敏主任医师
谢晓华副教授
邢光明教授
徐大华主任医师
徐迅迪副主任医师
徐泱副主任医师
许戈良教授
严律南教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
杨秋蒙副主任医师
杨维良教授
伊力亚尔·夏合丁教授
殷正丰教授
于聪慧教授
于则利教授
郁宝铭教授
元云飞教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张群华教授
张水军教授
张宗明教授
周伟平教授
邹小明教授

消化感染病学

陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈仕珠主任医师
陈志辉副主任医师
党双锁教授
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
高润平教授

高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
何生松教授
胡国信副主任医师
林菊生教授
刘正稳教授
貌盼勇研究员
宁琴教授
钱林学主任医师
孙殿兴主任医师
谭德明教授
汤华研究员
唐霓副研究员
唐晓鹏教授
王凯教授
王怡主任医师
魏来教授
吴建国教授
吴君主任医师
宣世英教授
杨江华副主任医师
杨林副研究员
姚鹏副教授
张继明教授
张明辉副主任医师
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵连三教授
周霞秋教授
朱传武主任医师
庄林主任医师

消化中医药学

蔡淦教授
陈治水主任医师
杜群副研究员
黄恒青主任医师
李军祥教授
李康副教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘孟安教授
刘平教授
刘绍能主任医师

沈洪教授
唐志鹏研究员
王富春教授
王新月教授
谢鸣教授
徐列明教授
许玲副教授
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
陈公琰主任医师
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘彬彬副研究员
刘云鹏教授
沈克平主任医师
肖文华主任医师
熊斌教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
陈克敏教授
官泳松教授
韩新巍教授
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐爱民副教授
徐克教授
严惟力副教授
杨业发教授
杨建勇教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授
郝俊鸣副主任医师
潘林娜教授
孙明军教授
万军教授
吴硕东教授

袁友红副教授

消化中西医结合学

唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
张春虎副教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
樊红副教授
高春芳研究员
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
胡旭初副教授
黄园教授
黄文林教授
李刚教授
李杰副教授
李永哲副研究员

李增山副教授
刘克辛教授
梅林教授
钱睿哲教授
任超世研究员
任浩副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
田文静副教授
田颖刚副研究员
王钦红教授
汪思应教授
吴军研究员
吴俊华副教授
徐宁志研究员
许文燮教授
姚登福教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬副教授
张青云研究员
张学教授
赵平副教授
周南进研究员

周士胜教授
周素芳教授
周晓东研究员
周晓武副主任医师

消化病理学

杜祥教授
李淳副教授
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
马大烈教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
魏蕾教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵景民教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2010年5月18日 第18卷 第14期 (总第310期)

述 评	1411 胃肠道细胞生物学的中西医结合研究进展 吴燕敏, 魏睦新
基础研究	1417 糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦PSD95和Synapsin- I 的表达和意义 田爱霞, 钱伟, 刘诗 1422 SUMO-1在实验性大鼠肝纤维化形成过程中的作用 肖志华, 郭武华, 张吉翔 1428 内脏高敏感大鼠结肠5-羟色胺转运体蛋白的表达 孙程程, 迟雁, 王化虹, 谢鹏雁
临床研究	1434 PARP-1基因多态性与胃癌易感性的关系 康士亮, 李玉民, 何雯婷, 刘涛, 李汛, 周文策, 易剑锋, 曾祥挺
焦点论坛	1442 非酒精性脂肪性肝病中医治疗研究进展 李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立, 鞠大宏, 赵宏艳, 刘梅洁, 姚树坤, 高春, 赵文霞, 车念聪, 季光, 张莉, 余轶群 1443 中医药治疗非酒精性脂肪性肝病研究述评 李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立 1452 非酒精性脂肪性肝病病证结合动物模型的研究进展 鞠大宏, 赵宏艳, 刘梅洁 1456 酒精性肝病与非酒精性脂肪性肝病的鉴别诊断 姚树坤, 高春 1461 如何改善非酒精性脂肪性肝炎患者的肝功能 赵文霞 1465 病毒性肝炎伴发脂肪肝的中医药治疗 车念聪 1469 重视非酒精性脂肪性肝病胰岛素抵抗的防治 季光, 张莉 1471 非酒精性脂肪性肝病的疗效评价 李军祥, 陈润花, 余轶群
文献综述	1478 microRNAs调控网络在大肠癌发病机制中的研究进展 杨建军, 马延磊, 秦环龙
研究快报	1485 稳定干扰Pin1基因的食管癌细胞株的筛选及其生物学特征 李玲, 陈平, 连鸿凯, 赵继敏, 马俊芬, 董子明
临床经验	1489 幽门螺杆菌感染者IL-1 β 分泌与糜烂性食管炎的关系 章菲菲, 瞿玲玲, 曹广亚, 许子倩, 吕鸣, 吕有灵 1492 TNF- α 和IL-6在非酒精性脂肪性肝病患者血清中的水平及意义 谢伶俐, 周力, 李丽滨, 陈晓琴, 张永宏, 杨杰 1497 2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝58例 邱倩

	<p>1501 血清肝纤维化指标与慢性肝炎肝纤维化程度的相关性 胡兴荣, 崔显念, 胡启托, 陈军</p> <p>1504 海藻酸钠微球栓塞治疗术后复发性肝细胞癌40例 李保国, 温浩, 郭志</p> <p>1509 血清瘦素与结直肠癌相关癌基因表达的相关性 黄哲, 沈名扬, 王俊江, 丛进春, 陈春生</p>
附 录	<p>1514 《世界华人消化杂志》投稿须知</p> <p>1519 2010年国内国际会议预告</p>
志 谢	<p>1520 志谢世界华人消化杂志编委</p>
消 息	<p>1416 汤姆森-路透公布2008年WJG影响因子2.081</p> <p>1433 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》</p> <p>1441 《世界华人消化杂志》外文字符标准</p> <p>1451 WJG成功通过评审被PMC收录</p> <p>1460 《中国期刊引证报告(扩刊版)》发布《世界华人消化杂志》影响因子0.729</p> <p>1468 2008年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序</p> <p>1473 《世界华人消化杂志》栏目设置</p> <p>1477 2009年《世界华人消化杂志》编委审稿总结</p> <p>1484 《世界华人消化杂志》修回稿须知</p> <p>1491 《世界华人消化杂志》参考文献要求</p> <p>1496 《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》</p> <p>1500 《世界华人消化杂志》出版流程</p> <p>1508 《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布《世界华人消化杂志》2008年影响因子0.547</p> <p>1513 《世界华人消化杂志》正文要求</p>
封面故事	<p>Li Z, Zhang HY, Lv LX, Li DF, Dai JX, Sha O, Li WQ, Bai Y, Yuan L. Roux-en-Y gastric bypass promotes expression of PDX-1 and regeneration of β-cells in Goto-Kakizaki rats. <i>World J Gastroenterol</i> 2010; 16(18): 2244-2251 http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v16/i18/2244.htm</p>
本期责任人	<p>编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 何基才; 英文编辑 王天奇, 王先林; 责任编辑 李军亮; 形式规范 马连生</p>

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2010-05-18

原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣

总 编 辑 马连生

编辑部主任 李军亮

期 刊 名 称 世界华人消化杂志

主 管 单 位 山西省科学技术厅

主 办 单 位 太原消化病研治中心

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656

E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

出版 世界华人消化杂志编辑部
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656

E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界华人消化杂志编辑部
030001, 山西省太原市双塔西街77号
电话: 0351-4078656
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

世界华人消化杂志是一份同行评议性的旬刊, 是一份被《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wjcd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

2010年版版权归世界华人消化杂志所有

中国标准连续出版物号 **ISSN 1009-3079**
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262

国外代号 **M 4481**

国内定价 每份56.00元 全年2016.00元

广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

May 2010 Contents in Brief Volume 18 Number 14

EDITORIAL	1411 Advances in research on gastrointestinal cell biology by integrated Chinese and Western medicine <i>Wu YM, Wei MX</i>
BASIC RESEARCH	1417 Significance of PSD95 and synapsin-I expression in the gastric antrum of rats with diabetic gastroparesis <i>Tian AX, Qian W, Liu S</i> 1422 Role of small ubiquitin-related modifier-1 in the pathogenesis of hepatic fibrosis in rats <i>Xiao ZH, Guo WH, Zhang JX</i> 1428 Serotonin transporter expression in rats with chronic visceral hypersensitivity <i>Sun CC, Chi Y, Wang HH, Xie PY</i>
CLINICAL RESEARCH	1434 Association between PARP-1 polymorphisms and susceptibility to gastric cancer <i>Kang SL, Li YM, He WT, Liu T, Li X, Zhou WC, Yi JF, Zeng XT</i>
TOPIC HIGHLIGHT	1442 Advances in Chinese medicine of nonalcoholic fatty liver disease <i>Li JX, Chen RH, Su DM, Li L, Ju DH, Zhao HY, Liu MJ, Yao SK, Gao C, Zhao WX, Che NC, Ji G, Zhang L, Yu YQ</i> 1443 Advances in management of nonalcoholic fatty liver disease by Chinese medicine <i>Li JX, Chen RH, Su DM, Li L</i> 1452 Advances in animal models of nonalcoholic fatty liver disease that combine disease and syndromes <i>Ju DH, Zhao HY, Liu MJ</i> 1456 Differential diagnosis between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease <i>Yao SK, Gao C</i> 1461 How to improve liver function in patients with nonalcoholic steatohepatitis <i>Zhao WX</i> 1465 Treatment of viral hepatitis with fatty liver by Chinese medicine <i>Che NC</i> 1469 Prevention and treatment of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease <i>Ji G, Zhang L</i> 1471 Therapeutic evaluation in patients with nonalcoholic fatty liver disease <i>Li JX, Chen RH, Yu YQ</i>
REVIEW	1478 Advances in understanding the role of microRNA regulatory network in the pathogenesis of colorectal cancer <i>Yang JJ, Ma YL, Qin HL</i>
RAPID COMMUNICATION	1485 Screening and characterization of stable Pin1-knockdown esophageal squamous cell carcinoma cell strains <i>Li L, Chen P, Lian HK, Zhao JM, Ma JF, Dong ZM</i>
CLINICAL PRACTICE	1489 Association between interleukin-1 β production and erosive esophagitis in <i>Helicobacter pylori</i> -infected patients <i>Zhang FF, Qu LL, Cao GY, Xu ZQ, Lv M, Lv YL</i>

	<p>1492 Significance of serum levels of tumor necrosis factor-α and interleukin-6 in patients with nonalcoholic fatty liver disease <i>Xie LL, Zhou L, Li LB, Chen XQ, Zhang YH, Yang J</i></p> <p>1497 Risk factors for type 2 diabetes accompanying nonalcoholic fatty liver: an analysis of 58 cases <i>Di Q</i></p> <p>1501 Correlation between serum fibrosis markers and the degree of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis <i>Hu XR, Cui XN, Hu QT, Chen J</i></p> <p>1504 Transcatheter arterial embolization therapy of recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy with kelp micro gelation: an analysis of 40 cases <i>Li BG, Wen H, Guo Z</i></p> <p>1509 Correlation of serum leptin with oncogene expression in colorectal cancer <i>Huang Z, Shen MY, Wang JJ, Cong JC, Chen CS</i></p>
APPENDIX	<p>1514 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology</p> <p>1519 Meeting events calendar in 2010</p>
ACKNOWLEDGMENT	<p>1520 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology</p>
COVER	<p><i>Li Z, Zhang HY, Lv LX, Li DF, Dai JX, Sha O, Li WQ, Bai Y, Yuan L.</i> Roux-en-Y gastric bypass promotes expression of PDX-1 and regeneration of β-cells in Goto-Kakizaki rats. <i>World J Gastroenterol</i> 2009; 16(18): 2244-2251 http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v16/i18/2244.htm</p>
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang, Xian-Lin Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date May 18, 2010

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology of Shanxi Province

SPONSOR

Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

EDITING

Editorial Board of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjgd@wjgnet.com

PRINTING

Beijing Kexin Printing House

PUBLISHING

Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

OVERSEAS DISTRIBUTOR

Beijing Bureau for Distribution of Newspapers and Journals (Code No. 82-261)
China International Book Trading Corporation PO Box 399, Beijing, China (Code No. M4481)

HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

SCIENCE EDITORS

Director: Jun-Liang Li

SUBSCRIPTION

RMB 56 Yuan for each issue
RMB 2016 Yuan for one year

CSSN

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2010 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access please contact the editorial office.

Copyright © 2010 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

胃肠道细胞生物学的中西医结合研究进展

吴燕敏, 魏睦新

吴燕敏, 魏睦新, 南京医科大学第一附属医院中医科 江苏省南京市 210029
魏睦新, 教授, 主要从事消化病中西医结合基础与临床研究。
日本独立行政法人新能源产业技术综合开发署国际合作研究事业部分基金资助项目, No. NEDO2006-1
2009-2010年度江苏省中医药局科技基金资助项目, No. LZ09078
作者贡献分布: 文献收集与综述写作由吴燕敏完成; 审校由魏睦新完成。
通讯作者: 魏睦新, 教授, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院中医科. weimuxin@njmu.edu.cn
收稿日期: 2010-02-28 修回日期: 2010-04-20
接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Advances in research on gastrointestinal cell biology by integrated Chinese and Western medicine

Yan-Min Wu, Mu-Xin Wei

Yan-Min Wu, Mu-Xin Wei, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by: the International Cooperation Program of New Energy and Industrial Technology Development Organization of Japan, No. NEDO2006-1; the Technology Fund Project supported by Traditional Chinese Medicine of Jiangsu Province, No. LZ09078

Correspondence to: Professor Mu-Xin Wei, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. weimuxin@njmu.edu.cn

Received: 2010-02-28 Revised: 2010-04-20

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

In recent years, great advances have been made in the basic and clinical research of digestive diseases by integrated Chinese and Western medicine. In terms of basic research, the importance of cell biology is worthy of more attention. This article reviews the recent advances in research on gastrointestinal cell biology by integrated Chinese and Western medicine.

Key Words: Gastrointestinal cell; Cell biology; Epithelial cell; Gland cell; Endocrine cell; Traditional Chinese medicine; Integrated Chinese and Western medicine

Wu YM, Wei MX. Advances in research on gastrointestinal

www.wjgnet.com

cell biology by integrated Chinese and Western medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1411-1416

摘要

近年来, 消化系统疾病在中西医结合的基础和临床研究中取得长足进步, 就基础研究而言, 细胞生物学的研究, 值得关注. 本文就国内外对胃肠道细胞生物学的中西医结合研究进展作一综述.

关键词: 胃肠道细胞; 细胞生物学; 上皮细胞; 腺体细胞; 内分泌细胞; 中医; 中西医结合

吴燕敏, 魏睦新. 胃肠道细胞生物学的中西医结合研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1411-1416

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1411.asp>

0 引言

近年来, 消化系统疾病在中西医结合的基础和临床研究中取得长足进步^[1], 就基础研究而言, 细胞生物学的研究, 值得关注. 因为细胞是生物体的形态结构和生命活动的基本单位, 要了解消化系统疾病的本质就必须从了解细胞开始. 细胞生物学(cell biology)以细胞为对象, 研究并揭示诸如: 结构与功能、基本生命活动、生长、发育、分化、代谢、繁殖、运动和联络等生物科学的许多基本问题. 本文现将国内外胃肠道细胞生物学的中西医结合研究进展作一综述.

1 胃肠道上皮细胞

1.1 表面黏液细胞 表面黏液细胞(surface mucous cell, SMC)是胃黏膜上皮细胞, 呈柱状, 椭圆形的核, 位于基底部; 顶部胞质充满黏原颗粒, 在HE染色切片上着色浅淡以至透明; 细胞间有紧密连接. 此细胞分泌含高浓度HCO₃⁻的不可溶性黏液, 覆盖于上皮表面有重要保护作用. SMC不断脱落, 由胃小凹底部的干细胞增殖补充, 3-5 d更新一次^[2]. 如果胃黏膜上皮中出现本来没有的如肠道中的杯状细胞, 病理学称此现象为胃黏膜上皮肠化生, 是胃癌的癌前期病变.

1.2 吸收细胞 吸收细胞(absorptive cell, AC)是

■背景资料

细胞是生物体的形态结构和生命活动的基本单位, 要了解消化系统疾病的本质就必须从了解细胞开始. 细胞生物学(cell biology)以细胞为对象, 研究并揭示诸如: 结构与功能、基本生命活动、生长、发育、分化、代谢、繁殖、运动和联络等生物科学的许多基本问题.

■同行评议者

许玲, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长征医院中医科

■ 研发前沿

近年来,消化系统疾病在中西医结合的基础和临床研究中取得长足进步,就基础研究而言,细胞生物学的研究,值得关注。

组成小肠黏膜上皮的主要细胞,呈高柱状,核椭圆形,位于基底部.每个吸收细胞有微绒毛2 000-3 000根,微绒毛表面有一层厚0.1-0.5 μm 的细胞衣,是消化吸收的重要部位.胞质内有丰富的滑面内质网,是脂肪吸收和转运的重要场所.相邻细胞顶部有完善的紧密连接,可阻止肠腔内物质由细胞间隙进入组织,保证选择性吸收的进行.除消化吸收作用外,AC也参与分泌性免疫球蛋白A的释放过程;十二指肠和空肠上段的吸收细胞还向肠腔分泌肠致活酶,可以激活胰腺分泌的胰蛋白酶原,使之转变为具有活性的胰蛋白酶.

中医学近年来对AC的研究也越来越深入.王秀琴等^[3]用Wistar成年 δ 大鼠8只,分为对照组、实验性脾虚组、自然恢复组和中药治疗组.四组动物用水合氯醛麻醉后,经心脏灌流固定,取空肠制成50 μm 厚的振荡切片,按Robinson和Karnovsky法显示 Mg^{2+} -ATPase,然后常规电镜包埋和制片,在H-700型电镜下观察,结果显示,在黏膜吸收细胞微绒毛质膜铈离子(Ce^{3+})沉淀呈现为电子密度较高的细密颗粒,脾虚组酶反应强度明显低于对照组,自然恢复组酶反应高于脾虚组而低于对照组,中药治疗组酶反应较高,与对照组相似.此结果提示:肠黏膜AC的ATP酶活性的降低,使食物的消化吸收减弱.姜洪华等对“胃脘痛”证并诊断为脾气虚患者的线粒体超微结构进行研究,发现脾气虚证患者AC的线粒体数量及结构有改变:数量明显减少,结构有明显的肿胀,变形,嵴减少或消失,有些线粒体甚至有空泡形成,为中医学脾气虚证的诊断提供了新思路^[4,5].

1.3 杯状细胞 杯状细胞(goblet cell, GC)散在分布于柱状细胞间,因其分泌的黏液或其前驱物质贮存于细胞使他的形状犹如酒杯而得此名. GC是混在黏膜上皮中的一种黏液分泌细胞,底部狭窄,顶部膨大,充满黏原颗粒,HE(苏木精-伊红)染色为蓝色或空泡状,常成群聚集在小血管旁,胞质内充满粗大的嗜碱性颗粒,醛复红染色呈紫色;能分泌黏液,有润滑上皮表面和保护上皮的作用.从十二指肠至回肠末端,GC数量逐渐增多.

GC是西医临床许多疾病的诊断依据,如Barrett's食管、溃疡性结肠炎、肠易激综合征及阑尾杯状细胞类癌等^[6-9].祖国医学对GC的研究较少,王臻楠等^[10]曾从细胞增殖动力学角度探讨清肠栓促进结肠溃疡愈合的作用机制,结果显

示清肠栓具有促进结肠炎大鼠结肠黏膜细胞增殖、增加GC的数量和分泌黏液等作用,能够促进结肠溃疡的愈合过程.

2 胃肠道外分泌腺体细胞

2.1 主细胞 主细胞(chief cell, CC)又称胃酶细胞(zymogenic cell),主要分布于胃底腺底部,是组成胃底腺的主要细胞,具有典型的蛋白质分泌细胞的结构特点.细胞呈柱状,核圆形,位于基部;胞质基部呈强嗜碱性,顶部充满酶原颗粒,但在普通固定染色的标本上,颗粒多溶失,使该部位呈泡沫状.电镜下,核周有大量粗面内质网和发达的高尔基复合体,顶部有许多酶原颗粒. CC的主要功能是分泌胃蛋白酶原.

影响CC结构、功能及数量的因素很多,CC也与很多疾病有关,尤其是萎缩性胃炎^[11],中医中药在这方面也开始投入了大量的人力物力.朱方石等^[12]用云母单体颗粒制剂对实验性萎缩性胃炎大鼠进行干预治疗,观察模型大鼠胃黏膜CC及胃黏膜病理组织学变化情况,结果发现云母能不同程度提高模型大鼠胃黏膜CC数,促进胃蛋白酶、胃酸分泌,从而减轻胃黏膜腺体萎缩.周平等^[13]采用Pronase-EDTA法分离大鼠胃黏膜CC,观察乙醇对细胞的损伤作用及丹参提取物F对他的影响,结果显示丹参提取物F对乙醇诱发的胃黏膜CC损伤具有直接的细胞保护作用,其机制可能与减轻细胞内钙超载有关.

2.2 壁细胞 壁细胞(parietal cell, PTC)又称泌酸细胞(oxynitic cell),主要分布于胃底腺的峡颈部.此细胞体积大,多呈圆锥形;核圆而深染,居中,可有双核;胞质呈均质而明显的嗜酸性.电镜下,胞质中有迂曲分支的细胞内分泌小管,丰富的线粒体和少量粗面内质网和高尔基复合体. PTC的主要功能为分泌盐酸,对胃内酸碱平衡的维持有重要作用.胃PTC有逆250万倍梯度浓度分泌 H^+ 的能力,这是 H^+ - K^+ -ATP酶(质子泵)作用的结果,又与PTC特征性形态学改变相关联.组胺、Ach等促分泌因子通过神经、旁分泌和内分泌途径,介导调节盐酸的分泌,除通过激活环腺苷酸(cAMP),增加 Ca^{2+} 内流来刺激泌酸外,还伴有离子通道的调节^[14-18].

随着细胞生物学、分子生物学和各种显微技术的完善,PTC对胃黏膜增生分化的直接或间接调控作用显得越来越重要.大量研究显示,中药补气药、补脾药,补气方、补脾方通过降低PTC胞内 Ca^{2+} /CaM活性或胃PTC胃泌素受体结

合位点数或调控PTC分泌功能, 从而起到保护胃黏膜, 调节胃黏膜增生分化的作用^[19-22], 为相关消化系统疾病的治疗开拓了新的方法, 提供了新的途径。

2.3 潘氏细胞 潘氏细胞(Paneth cell, PC)是小肠腺的特征性细胞, 常三五成群位于腺底部。细胞呈锥体形, 顶部胞质充满粗大嗜酸性的分泌颗粒。电镜下观察, 该细胞具有蛋白质分泌细胞的特点。

近年来研究已证实PC可分泌防御素、溶菌酶、sIgA等多种物质, 对黏膜上皮细胞的修复、重建具有重要作用, 对肠道微生物有杀灭作用, 是肠黏膜屏障重要的组成基础^[23-25]。PC也是一种参与免疫反应的非免疫细胞, 其表达的NOD2、Toll样受体9、肝癌-肠-胰腺/胰腺炎相关蛋白、RegIII γ 、肿瘤坏死因子 α 、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、白介素-17等都是免疫反应的重要成分, 而且近来有研究证实NOD2单核苷酸多态性与克罗恩病有关^[26,27]。PC还能合成金属硫蛋白、富半胱氨酸肠蛋白、MNK蛋白、PC锌结合蛋白等金属结合蛋白, 而且这些蛋白均匀分布于PC表面, 提示PC直接参与金属离子的代谢, 特别是锌的吸收、储存、转运及生物利用, 对于抵抗重金属的毒性有重要意义^[28]。PC化生常发生于胃、大肠的炎症与肿瘤病变, 其病理意义尚不明确, 有待于进一步研究。该类细胞的中西医结合研究尚未见有报道。

2.4 颈黏液细胞和干细胞 这两种细胞也是组成消化系腺体的重要细胞。颈黏液细胞(mucous neck cell, MNC)数量较少, 位于胃底腺颈部, 常呈楔形夹在其他细胞之间; 核扁平, 居细胞基底, 核上方有很多黏原颗粒; 其主要作用是分泌可溶性的酸性黏液。胃底腺和小肠腺均可找到干细胞(stem cell, SC), 胞体较小, 呈柱状, 通过不断增殖、分化、向上迁移来补充腺体上方的吸收细胞和杯状细胞, 或者分化为PC和内分泌细胞。近年来, MNC和SC的特性已渐被揭示, 但他们确切的功能及调控机制尚未完全阐明, 研究他们可对消化系黏膜病变及某些全身性疾病(癌症)的治疗奠定一定的理论基础。

3 胃肠道内分泌细胞

3.1 生长抑素细胞和胃泌素细胞 生长抑素细胞简称D细胞, 胃泌素细胞简称G细胞, 均为存在于胃窦和十二指肠黏膜的内分泌细胞, 他们大多单个夹于其他上皮细胞之间, 呈不规则的锥体

形; 胞质中含一些粗面内质网和高尔基复合体; 最显著的形态特点是底部胞质中含大量分泌颗粒, 故又称基底颗粒细胞。

G、D细胞在功能上相互约束、相互协调, 共同维持胃肠道的正常生理功能。先前大量研究发现慢性胃炎随着组织萎缩程度的加重, G、D细胞有逐渐减少的趋势, 特别在肠化生的胃炎更明显。葛振华等^[29]利用免疫细胞化学和原位杂交技术探讨了G、D细胞与肠化生的关系, 结果显示G细胞、D细胞的减少或缺如与胃黏膜肠化生的发生发展有着紧密的联系。中医中药对慢性胃炎及胃黏膜肠化生的治疗有着很好的疗效, 我们课题组就是运用了中医论治的原理, 结合现代中药药理和内镜病理, 摸索出了一系列治疗方案, 并取得了很好的临床治疗效果^[30], 但中药对G、D细胞的主要作用机制都是调整他们的数量, 或改变他们的超微结构, 进而改善胃黏膜炎症反应, 促进腺体及内(旁)分泌细胞再生, 改善胃肠激素对胃功能的调节^[31,32]。

3.2 肠嗜铬细胞 胃肠道黏膜没有神经纤维分布, 肠嗜铬细胞(enterochromaffin cells, EC)合成并储存机体大部分5-HT, 胚胎发育来自神经外胚层, 与神经细胞有许多相似之处, 其顶部突向肠腔, 暴露于肠内容物中, 有微绒毛增加表面积, 起机械、化学换能器作用, 受刺激后EC去极化, 导致Ca²⁺内流, 通过胞吐作用将5-HT释放入腺腔和黏膜固有层。EC释放的5-HT通过与相关受体结合, 调控胃肠道感觉、分泌及运动功能。具体作用方式有以下3种: (1)通过5-HT受体直接作用于上皮细胞或平滑肌产生分泌及运动^[33]; (2)通过作用于内源性传入神经(IPANs)及中间神经元, 产生并调节分泌、蠕动反射^[34,35]; (3)通过作用于外源性传入神经突触后膜上的5-HT₃受体, 将感觉信号传入中枢神经系统^[36]。

祖国医学也对EC进行了大量的研究: 桂林^[37]利用大黄建立大鼠泻剂结肠模型, 并对大鼠胃肠道EC的数量及形态进行观察发现, 大黄是破坏EC的释放平衡, 导致5-HT释放增加, 而产生泻下作用。但是长期应用大黄所致的泻剂结肠, 不是由于EC破坏, 数量下降, 合成的5-HT不足, 而是EC对刺激逐渐耐受, 5-HT释放相对减少, 不足以维持胃肠道正常运动及分泌所致。另外有学者研究发现加味痛泻要方可通过抑制EC的异常增生, 调节5-HT的分泌而使腹泻型肠易激综合征得以治疗^[38]。

除了以上3类细胞以外, 在胃肠道上皮和腺

■ 相关报道

朱方石等用云母单体颗粒制剂对实验性萎缩性胃炎大鼠进行干预治疗, 观察模型大鼠胃黏膜CC及胃黏膜病理组织学变化情况, 结果发现云母能不同程度提高模型大鼠胃黏膜CC数, 促进胃蛋白酶、胃酸分泌, 从而减轻胃黏膜腺体萎缩。

■应用要点

在治疗方面,若能
将中西医结合起
来,直接作用于胃
肠道疾病的本质-
胃肠道细胞,相互
取长补短、发挥
各自的优势,达到
既源于中西医学
又高于中西医学
的治病效果,可能
是一条治疗消化
系疾病的新途径.

体中散布着40余种内分泌细胞,除上述细胞外还有如ECL、I、PP细胞等,他们在某种意义上使胃肠道成为人体最大、最复杂的内分泌器官.在HE染色切片上,胃肠内分泌细胞不易辨认,目前主要用免疫组织化学方法显示这些细胞.这类细胞绝大多数具有面向管腔的游离面,称开放型,通过管腔内食物和pH等化学信息的改变而引起其内分泌活动的变化;少数细胞被相邻细胞覆盖而未露出腔面,称封闭型,主要受胃肠运动的机械刺激或其他激素的调节而改变其内分泌状态.他们分泌的激素主要通过血液循环运送至靶细胞或以旁分泌方式调节靶细胞的生理功能而起到协调胃肠道的消化吸收,以及调节其他器官的生理活动的作用.

4 其他

4.1 肠上皮内淋巴细胞 肠上皮内淋巴细胞(intestinal intraepithelial lymphocytes, iIEL)指位于消化系肠上皮基膜上方、绒毛上皮细胞之间的一些表型及功能异质的淋巴细胞,是庞大的T细胞(CD3⁺)群体.其形态不规则,细胞膜着色深,胞质内除一般细胞器外,常见颗粒状物. iIEL与相邻上皮细胞及基底膜之间未见桥粒及其他连接形式,可随肠上皮脱落到肠腔内,其生命很短,只有3-4 d. 正常成人每100个肠上皮细胞间有6-40个iIEL,其中90%以上是CD3⁺ T细胞,主要为CD3⁺CD8⁺ T细胞,且多为TCR $\gamma\delta$ T细胞,此细胞对肠上皮部位有特殊的趋向性,这种特殊的组织定位与TCR⁺ iIEL表达独特的黏附分子-整合素 $\alpha E\beta 7$ 密切相关. iIEL在肠道免疫屏障中占有特殊地位^[39],活化后可分泌大量的Th1、Th2型等细胞因子,并具有强大的细胞毒活性^[40].

iIEL与人类炎性肠道疾病(inflammatory bowel disease, IBD)密切相关.以前有大量研究发现,IBD与肠黏膜固有层CD4⁺ T细胞的增殖反应降低有关,具体表现在对TCR/CD3的增殖信号反应下降,而CD2/CD28的辅助信号途径受到保护.近来,又有张玉萍等^[41]学者研究发现大承气颗粒药物血清能通过增加iIEL[Ca²⁺]_i,显著刺激iIEL增殖,对维护肠免疫屏障有重要意义,为治疗IBD提供了新的思路.

4.2 Cajal间质细胞 Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)是分布在消化系自主神经末梢和平滑肌细胞之间的一类特殊细胞,目前认为他是胃肠运动的起搏细胞并介导神经递质的传递.这些细胞表达酪氨酸激酶受体(c-Kit),并以干细

胞因子(stem cell factor, SCF)为配体,其生长发育和表型的维持有赖于SCF与KIT的结合发挥的信号传导作用. ICC胞体呈纺锤形或圆形,发出细长的细胞突起,突起与平滑肌细胞及自主神经形成广泛的联系,组成“功能元件”.按ICC分布的部位不同可分为:黏膜下ICC、肌间ICC、肌内ICC和深层肌丛ICC四类,但有人认为神经丛内的c-Kit阳性的ICC并非ICC-DMP而是ICC-IM^[42].在电镜下,ICC的特征可以概括为以下几个特点:(1)线粒体的数量多,体积大;(2)大量中间丝;(3)缺乏肌动纤维;(4)有胞膜小凹;(5)ICC间3级神经纤维间有突触样结构;(6)发育良好的粗、滑面内质网;(7)与平滑肌形成缝隙连接.

近年来研究发现ICC与许多胃肠道动力障碍性疾病有关,如(1)糖尿病性胃轻瘫:动物实验发现,ICC的超微结构发生了显著的变化,胞质溶解,线粒体肿胀、空泡样变,细胞内细胞器减少,ICC之间及其与神经末梢和与平滑肌细胞之间的连接显著减少、结构显著破坏,连接松散,这些形态学的变化必定会影响其功能的发挥,这也很可能是糖尿病胃轻瘫的发病原因^[43].(2)贲门失弛缓症:食管下段括约肌处ICC明显减少,ICC与神经末梢膨体的密切接触消失,胞内线粒体、光面内质网数目减少^[42].(3)慢传输型便秘:结肠肠壁各类型的ICC均有减少,分布不均匀,ICC细胞体积减小,突起连接杂乱^[44,45]. ICC还与婴儿增生性幽门狭窄、溃疡性结肠炎、局限性肠炎、先天性巨结肠、Chagasic巨结肠、Hirschsprung病和假性肠梗阻等消化系统疾病有关.近年来又有学者用组织病理学、免疫组织化学等方法研究发现ICC可能与胃肠道某些肿瘤有关^[46].

5 结论

胃肠道细胞各司其职,相互作用,相互影响,是胃肠道能进行正常生命活动的基本单位,但同时他们的异常活动、结构及数量的改变等因素也是胃肠道疾病发生的根本原因,只有对他们进行深入研究,才能从本质上揭示胃肠道的奥秘,才是征服胃肠道疾病的关键.但是目前对胃肠道细胞的研究还停留在细胞结构及数量的改变,蛋白质、分子及基因水平的深入研究可能是一个新的研究方向.在治疗方面,若能将中西医结合起来,直接作用于胃肠道疾病的本质-胃肠道细胞,相互取长补短、发挥各自的优势,达

到既源于中医学又高于中医学的治病效果,可能是一条治疗消化系统疾病的新途径。

6 参考文献

- 魏睦新, 胡平. 消化病中西医结合基础研究评述. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2545-2549
- 高茂英. 组织学与胚胎学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 202
- 王秀琴, 曾晓蓓, 孟庆峰, 杨进. 大鼠实验性脾虚证空肠粘膜吸收细胞ATP酶的细胞化学研究. 中国组织化学与细胞化学杂志 1997; 6: 422-424
- 程学仁, 王建华, 劳绍贤. 脾虚证患者十二指肠吸收细胞线粒体的观察. 安徽中医学院学报 1999; 18: 33-34
- 姜洪华, 周福生, 廖荣鑫, 许仕杰. 不同病种的脾气虚证患者吸收细胞线粒体超微结构的观察. 广东医学 2008; 29: 548-549
- Krishnadath KK. Novel findings in the pathogenesis of esophageal columnar metaplasia or Barrett's esophagus. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 440-445
- 孔武明, 龚均, 陈明霞, 董雷, 秦斌. 肠易激综合征患者肠黏膜超微结构改变的电镜观察. 西安交通大学学报(医学版) 2008; 29: 318-320
- Folwaczny C, Noehl N, Tschöp K, Endres SP, Heldwein W, Loeschke K, Fricke H. Goblet cell autoantibodies in patients with inflammatory bowel disease and their first-degree relatives. *Gastroenterology* 1997; 113: 101-106
- Alsaad KO, Serra S, Chetty R. Combined goblet cell carcinoid and mucinous cystadenoma of the vermiform appendix. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 3431-3433
- 王臻楠, 唐志鹏, 马贵同, 张亚历. 清肠栓调节三硝基苯磺酸诱导结肠炎大鼠结肠黏膜细胞增殖的影响. 中国中西医结合消化杂志 2006; 14: 383-385
- 朱方石, 姒健敏, 王良静, 王冬飞, 陈萍. 萎缩性胃炎大鼠胃黏膜主、壁细胞和G、D细胞及外周血胃泌素、生长抑素的变化. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3261-3267
- 朱方石, 姒健敏, 王良静, 王冬飞, 陈萍. 云母颗粒对萎缩性胃炎大鼠胃黏膜主、壁细胞保护作用的研究. 中国药理与临床 2004; 20: 19-21
- 周平, 李和泉, 永田博司. 丹参提取物F对胃粘膜主细胞的保护作用. 中国病理生理杂志 1999; 15: 931-933
- Chen D, Zhao CM, Håkanson R, Samuelson LC, Rehfeld JF, Friis-Hansen L. Altered control of gastric acid secretion in gastrin-cholecystokinin double mutant mice. *Gastroenterology* 2004; 126: 476-487
- Okabe S, Fujishita T, Jinbo K. [New target for the inhibitors of gastric acid secretion. Inhibition of myosin and actin activities via the apical membrane of parietal cells in dogs] *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2003; 122 Suppl: 74P-77P
- Sawaguchi A, McDonald KL, Forte JG. High-pressure freezing of isolated gastric glands provides new insight into the fine structure and subcellular localization of H⁺/K⁺-ATPase in gastric parietal cells. *J Histochem Cytochem* 2004; 52: 77-86
- Malinowska DH, Sherry AM, Tewari KP, Cuppoletti J. Gastric parietal cell secretory membrane contains PKA- and acid-activated Kir2.1 K⁺ channels. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286: C495-C506
- Sachs G. Physiology of the parietal cell and therapeutic implications. *Pharmacotherapy* 2003; 23: 68S-73S
- 黄可儿, 李燕舞, 王汝俊, 王建华. 黄芪总苷对脾虚大鼠壁细胞胃泌素受体作用的研究. 广州中医药大学学报 2006; 23: 42-44
- 隋峰, 王汝俊, 王建华. 补中益气汤、党参、白术含药血清对脾虚大鼠壁细胞胞内Ca²⁺/CaM活性的影响. 中药药理与临床 2005; 21: 1-2
- 崔琦珍, 李燕舞, 王建华, 杜群, 梁雪芬, 巫燕莉. 补脾方药对脾虚大鼠壁细胞CaM及Ca²⁺/CaM-PK II活性的影响. 中药药理与临床 2007; 23: 1-2
- 邓响潮, 李燕舞, 王汝俊. 三七总苷对应激大鼠胃黏膜损伤及胃壁细胞超微结构的影响. 时珍国医国药 2008; 19: 2143-2145
- Salzman NH, Ghosh D, Huttner KM, Paterson Y, Bevins CL. Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin. *Nature* 2003; 422: 522-526
- Bevins CL. The Paneth cell and the innate immune response. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20: 572-580
- Bevins CL. Paneth cell defensins: key effector molecules of innate immunity. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 263-266
- Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Schäffeler E, Schlee M, Herrlinger KR, Stallmach A, Noack F, Fritz P, Schröder JM, Bevins CL, Fellermann K, Stange EF. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression. *Gut* 2004; 53: 1658-1664
- Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, Shen B, Schaeffeler E, Schwab M, Linzmeier R, Feathers RW, Chu H, Lima H Jr, Fellermann K, Ganz T, Stange EF, Bevins CL. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 18129-18134
- Szczurek EI, Bjornsson CS, Taylor CG. Dietary zinc deficiency and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine and liver of rats. *J Nutr* 2001; 131: 2132-2138
- 葛振华, 周凡, 武一曼, 唐福康, 王若愚, 周维湛. 人胃粘膜G、D细胞与肠化生关系的研究. 中国组织化学与细胞化学杂志 2001; 10: 241-244
- 吴燕敏, 马国花, 魏睦新. 香砂六君子汤加味治疗肠上皮化生50例. 中国中医急症 2008; 17: 246
- 李有田, 许丹, 赵莉, 李宏林, 董宇翔, 洪英杰, 张二力, 张殿君, 徐彩云, 高文艳, 霍毓萍, 李秋波, 李晓春. 三参滋胃饮对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜G细胞和D细胞的作用. 吉林大学学报(医学版) 2004; 30: 71-74
- 谢晶日, 沈林艳, 刘朝霞. 胃灵冲剂对大鼠慢性萎缩性胃炎黏膜G细胞及D细胞的影响. 中国中西医结合消化杂志 2006; 14: 190-191
- Pan H, Gershon MD. Activation of intrinsic afferent pathways in submucosal ganglia of the guinea pig small intestine. *J Neurosci* 2000; 20: 3295-3309
- Florica-Howells E, Liu MT, Ponimaskin EG, Li Z, Compan V, Hen R, Gingrich J, Gershon M. Distribution of 5-HT₄ receptors in wild-type mice and analyses of intestinal motility in 5-HT₄ knockout mice. *Gastroenterology* 2003; 124: A342
- Mazzia C, Hicks GA, Clerc N. Neuronal location of 5-hydroxytryptamine₃ receptor-like immunoreactivity in the rat colon. *Neuroscience* 2003; 116: 1033-1041
- Raybould HE, Glatzle J, Robin C, Meyer JH, Phan T, Wong H, Sternini C. Expression of 5-HT₃ receptors by extrinsic duodenal afferents contribute to intestinal inhibition of gastric emptying. *Am*

同行评价

本文从细胞生物学角度,以细胞为对象综述了中西医研究的进展,内容比较全面。

- J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: G367-G372
- 37 桂林. 泻剂结肠模型大鼠胃肠道肠嗜铬细胞、肥大细胞形态学研究. 河北医科大学, 2006: 1-45
- 38 陈朝元, 王岩, 何顺勇, 高全达, 吴晖, 张传眺. 加味痛泻要方对肝郁脾虚型D-IBS患者肠嗜铬细胞分泌5-HT的影响. 第九届国际治疗内镜和消化疾病学术会议论文汇编, 2008: 466-467
- 39 Müller CA, Autenrieth IB, Peschel A. Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 1297-1307
- 40 吕昌龙, 祁赞梅, 方芳, 刘军, 那立新, 吕超, 李宗喜. 实验性消化道溃疡的iIEL及其亚群(Thy1-)的TH1型细胞因子水平变化及细胞毒活性. 中国微生物学和免疫学杂志 2003; 23: 717-720
- 41 张玉萍, 方步武, 吴咸中. 大承气颗粒药血清对小鼠肠上皮内淋巴细胞增殖的作用. 天津中医药大学学报 2007; 26: 143-145
- 42 Wang XY, Paterson C, Huizinga JD. Cholinergic and nitrergic innervation of ICC-DMP and ICC-IM in the human small intestine. *Neurogastroenterol Motil* 2003; 15: 531-543
- 43 Camilleri M. Advances in diabetic gastroparesis. *Rev Gastroenterol Disord* 2002; 2: 47-56
- 44 林琳, 许海尘, 张红杰, 胡晔东, 林征, 赵志泉. 结肠慢传输运动小鼠Cajal间质细胞的改变. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2107-2110
- 45 Shafik A, El-Sibai O, Ahmed I, Shafik AA. Identification of interstitial cells of Cajal in the human rectum. *Front Biosci* 2004; 9: 2848-2851
- 46 Logroño R, Jones DV, Faruqi S, Bhutani MS. Recent advances in cell biology, diagnosis, and therapy of gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 251-258

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

汤姆森 - 路透公布 2008 年 WJG 影响因子 2.081

本刊讯 据汤姆森-路透科技信息集团2009-06-19发布《期刊引证报告》(*Journal Citation Reports*)的统计结果:*World Journal of Gastroenterology(WJG)*的总被引次数(TC): 10 822; 影响因子(IF): 2.081; 即年指数: 0.274; 论文数量: 1112; 半衰期: 3.1; 特征因子(EF): 0.05006. 特征因子这个指标是今年期刊引证报告里新加的一个指标. 与影响因子不同的是, 这个指标不仅考察了引文的数量, 而且考虑了施引期刊的影响力, 即: 某期刊如果越多地被高影响力的期刊引用, 则该期刊的影响力也越高. 正如Google考虑超链接的来源, 特征因子也充分考虑引文的来源, 并在计算中赋予不同施引期刊的引文以不同的权重. 特征因子分值的计算基于过去5年中期刊发表的论文在期刊引证报告统计当年的被引用情况. 与影响因子比较, 期刊特征因子分值的优点主要有: (1)特征因子考虑了期刊论文发表后5年的引用时段, 而影响因子只统计了2年的引文时段, 后者不能客观地反映期刊论文的引用高峰年份; (2)特征因子对期刊引证的统计包括自然科学和社会科学, 更为全面、完整; (3)特征因子的计算扣除了期刊的自引; (4)特征因子的计算基于随机的引文链接, 通过特征因子分值可以较为合理地测度科研人员用于阅读不同期刊的时间. 在55种国际胃肠病学和肝病学期刊中, *WJG*的EF, TC和IF分别名列第6, 9, 32位. (*WJG*编辑部主任: 程剑侠 2009-06-19)

糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦PSD95和Synapsin-I的表达和意义

田爱霞, 钱伟, 刘诗

田爱霞, 钱伟, 刘诗, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科 湖北省武汉市 430022

田爱霞, 2007年同济医学院附属协和医院硕士生, 主要从事胃肠病学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30670775

作者贡献分布: 研究过程和数据分析, 文章起草由田爱霞完成; 研究所用试剂和分析工具由钱伟提供; 课题设计、论文审核由刘诗完成。

通讯作者: 刘诗, 教授, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科. shiliugao@yahoo.com

电话: 027-85726381

收稿日期: 2010-02-04 修回日期: 2010-04-23

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Significance of PSD95 and synapsin-I expression in the gastric antrum of rats with diabetic gastroparesis

Ai-Xia Tian, Wei Qian, Shi Liu

Ai-Xia Tian, Wei Qian, Shi Liu, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 30670775

Correspondence to: Professor Shi Liu, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Tongji Medical college, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. shiliugao@yahoo.com

Received: 2010-02-04 Revised: 2010-04-23

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of postsynaptic density-95 (PSD95) and synapsin I in the gastric antrum of rats with diabetic gastroparesis and to explore the plasticity of the enteric nervous system (ENS).

METHODS: Forty-seven Sprague-Dawley rats were randomly divided into two groups: diabetic group ($n = 32$) and control group ($n = 15$). Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin. The mRNA and protein expression of PSD95, synapsin-I and P-Synapsin-I in the gastric antrum of rats at weeks 2, 4, 8 and 12 wk after diabetes induction was detected by real-time PCR and Western blot, respectively.

RESULTS: In the diabetic group, the mRNA

and protein expression levels of PSD95 and synapsin-I at all time points after week 4 were significantly lower than those in the control group (mRNA: $t = 2.92, 3.15, 4.21; t = 3.01, 3.74, 4.53$; Protein: $t = 2.87, 2.95, 3.37; t = 2.97, 3.11, 3.23$, all $P < 0.01$). As the disease progressed, the mRNA and protein expression levels of PSD95 and synapsin-I decreased gradually (both $P < 0.05$). No significant differences were detected in the mRNA and protein expression levels of PSD95 and synapsin-I among different time points in the control group (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: The expression of PSD95 and synapsin-I decreases with the progression of diabetes, which may contribute to the development of diabetic gastroparesis.

Key Words: Gastroparesis; Postsynaptic density-95; Synapsin-I; Synaptic plasticity

Tian AX, Qian W, Liu S. Significance of PSD95 and synapsin-I expression in the gastric antrum of rats with diabetic gastroparesis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1417-1421

摘要

目的: 研究在糖尿病进程中突触后致密蛋白95(PSD95), 突触蛋白-I (Synapsin-I)及其磷酸化状态P-Synapsin-I在胃窦的表达变化和作用, 探讨肠神经系统(ENS)的可塑性。

方法: 将SD δ 大鼠随机分为糖尿病组($n = 32$)和对照组($n = 15$)。应用Real-time PCR、Western blot方法检测胃窦组织中PSD95, Synapsin-I, P-Synapsin-I在糖尿病进程2, 4, 8, 12 wk时表达的变化。

结果: 从4 wk开始糖尿病大鼠组的PSD95, Synapsin-I mRNA表达相比同期对照组显著下降($t = 2.92, 3.15, 4.21; t = 3.01, 3.74, 4.53$, 均 $P < 0.01$); 且随着病程进展逐渐降低($P < 0.05$)。从4 wk开始糖尿病大鼠组的PSD95和P-Synapsin-I蛋白表达比同期对照组均显著下降($t = 2.87, 2.95, 3.37; t = 2.97, 3.11, 3.23$, 均 $P < 0.01$); 且随着病程进展逐渐降低($P < 0.05$)。

背景资料

糖尿病胃轻瘫(DGP)严重影响糖尿病患者生活质量, 常依赖于促胃肠动力药的使用, 但是长期使用会失效, 临床上欠缺良好的治疗办法。DGP主要发病机制是由于代谢原因导致肠神经系统发生神经突触病变, 引起胃排空障碍, 故研究糖尿病模型病程中肠神经系统的突触可塑性, 探讨突触重塑的可能, 从而为治疗DGP提供可行办法。

同行评议者
高国全, 教授, 中山大学中山医学院生化系

■ 研发前沿

目前研究表明, PSD95是突触敏感的结构和形态学指标, 其形态结构具有很大的可塑性或易变性. 在中枢神经系统疾病的预后转归中, PSD95通过影响突触结构和功能的重塑而发挥重要的作用. Synapsin- I是与突触囊泡相关的特异性磷酸蛋白, 其磷酸化水平可以间接反映突触的神经递质传递功能. 在脑神经和糖尿病某些并发症的研究中, Synapsin- I的重要性获得了肯定. 两种蛋白与肠神经系统突触可塑性的关系还有待深入探讨.

■ 创新盘点

目前关于突触可塑性研究多局限于中枢神经系统, 而本文选取了相应的指标PSD95和Synapsin- I, 运用定量的方法取代形态学观察研究, 更客观地从功能和形态方面探讨了肠神经系统的神经突触可塑性.

结论: 在糖尿病的进程中, 胃窦PSD95, Synapsin- I和P-Synapsin- I的表达降低可能与糖尿病胃轻瘫的发生有关, 为胃轻瘫的治疗提供了新的前景.

关键词: 胃轻瘫; 突触后致密蛋白95; 突触蛋白 I; 突触可塑性

田爱霞, 钱伟, 刘诗. 糖尿病胃轻瘫大鼠胃窦PSD95和Synapsin- I的表达和意义. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1417-1421 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1417.asp>

0 引言

糖尿病已成为一种常见病, 其发病率呈上升趋势, 而糖尿病胃轻瘫(diabetic gastroparesis, DGP)^[1]的发生严重影响了广大糖尿病患者的生活质量. DGP是由于胃肠运动功能障碍所致胃排空受损, 其发病涉及到多方面, 其中胃肠道肠神经系统(enteric nervous system, ENS)病变^[2,3], 其突触传递功能严重减退在DGP胃肠功能障碍中起着关键作用. 本课题对于ENS突触的研究选取了两种与突触可塑性紧密相关的突触相关蛋白. 一种为突触后致密蛋白95(postsynaptic density protein 95, PSD95), 是突触后致密区内含量最多的蛋白之一, 影响着突触结构和功能的重塑^[4,5]. 另一种突触蛋白 I(Synapsin- I)是突触蛋白中的主要蛋白之一, 通过磷酸化(P-Synapsin- I)和非磷酸化作用来调节神经递质的释放, 并对神经元的发育和再生起着重要的作用^[6]. 本文通过研究糖尿病病程中胃窦组织中PSD95和Synapsin- I及其磷酸化状态P-Synapsin- I的表达变化和作用, 来探讨糖尿病病程中ENS突触的可塑性, 从而寻求治疗DGP神经病变的可行办法.

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ SD大鼠47只, 体质量200-250 g, SPF级, 购自华中科技大学同济医学院动物中心; 链脲佐菌素(STZ)购自美国Alexis公司; 鼠尾血糖用美国强生的One Touch Ultratm测量; 兔PSD95抗体(PSD95, AB9708)购自Chemicon公司; 兔P-Synapsin- I抗体(P-Synapsin- I, ab47767-100)购自Abcam公司; 小鼠 β -actin抗体购自武汉博士德公司; 羊抗兔二抗, 羊抗小鼠二抗购自Invitrogen公司.

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型建立: 随机分为糖尿病组($n = 32$)和对照组($n = 15$). 糖尿病组禁食12 h后,

按55 mg/kg的剂量腹腔注射1% STZ诱导1型糖尿病(DM), 制备的模型具有糖尿病典型三多一少症状, 可用于糖尿病慢性并发症的研究^[7]. 3 d后若连续2次鼠尾非禁食血糖值 >13.87 mmol/L, 可视为糖尿病(DM)模型建立成功^[8]. Song等研究认为糖尿病造模4, 8, 12 wk组大鼠可作为DGP模型进行研究^[9]. 随后继续监测血糖, 在造模后第2、4、8及12周分别颈椎脱臼处死糖尿病组大鼠8只, 留取大鼠胃窦标本. 对照组大鼠给予柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液1.5 mL腹腔注射, 分别与同期糖尿病大鼠一起处死, 每期各3只, 留取标本.

1.2.2 PSD95和Synapsin- I mRNA转录水平检测: 采用Real-time PCR技术进行检测. (1)从GenBank中查出大鼠PSD95, Synapsin- I, GAPDH的mRNA全长序列, 应用引物设计软件Primer5.0, Blast设计相对应的专一性引物, 由Invitrogen公司合成. PSD95上游引物: 5'-CAAAGACCGTGC CAACGAT-3', 下游引物: 5'-GGGACACAGGAT CCAAACCTTGT-3', Synapsin- I上游引物: 5'-TT CAGCATGGCACGTAATGG-3', 下游引物5'-CC AGCATACTGCAGCCCAAT-3'. 以GAPDH为内参, 上游引物: 5'-CCACATCGCTCAGACACCAT -3', 下游引物: 5'-GACCAGGCGCCCAAT-3'. (2)总RNA提取: 每100 mg胃组织标本中加入500 μ L TRIzolTM(Invitrogen, USA)匀浆; 匀浆液4 $^{\circ}$ C、12 000 g离心10 min; 取上清, 加200 μ L氯仿, 混匀后室温静置10 min, 12 000 g离心10 min; 取上清, 加500 μ L异丙醇, 混匀后-20 $^{\circ}$ C静置30 min, 12 000 g离心10 min; 弃上清, 加750 mL/L乙醇1 mL混匀洗涤后, 8 000 g离心10 min; 弃上清、干燥后提取出组织总RNA. (3)逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR): 先在EP管中加入DEPC水5.5 μ L, DEPC水溶解的RNA 6 μ L, 50 mg/L的Oligo(dT)1 μ L, 置入PCR仪(PTC-150 MiniCyclerTM, MJ Research, USA)70 $^{\circ}$ C反应5min后, 取出置冰浴中再加入20 U/ μ L RNasin 0.5 μ L, 10 mmol/L的dNTP 2 μ L, 5 \times 逆转录缓冲液4 μ L, 200 U/mL逆转录酶1 μ L, 再次置入PCR仪, 37 $^{\circ}$ C 60 min、95 $^{\circ}$ C 5 min后合成cDNA, 置于-20 $^{\circ}$ C保存. (4)荧光定量PCR反应在Step One Real-time PCR system(AB Applied Biosystems)中进行, 反应体系中20 μ L包括Fast SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems)10 μ L, cDNA 2 μ L, 相应的10 pmol/L的上、下游引物(Invitrogen, USA)各3 μ L及ddH₂O 2 μ L. 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 15 s,

60 °C 1 min, 40个循环. (5)结果分析: 在控制一定的试验条件^[10], 保证扩增效率一致的前提下, 记录系统所得CT值, 分别以糖尿病造模前大鼠各指标mRNA表达为参照^[11,12], 设定其 $\Delta\Delta\text{CT}$ 值为0, 从而计算出各组PSD95和Synapsin- I mRNA相对表达量 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$.

1.2.3 PSD95和P-Synapsin- I 蛋白表达检测: 胃组织Western blot实验步骤: (1)每100 mg胃组织标本中加入392 μL 单去污裂解液、4 μL PMSF, 4 μL Aprotin及4 μL 复合磷酸酶抑制剂进行匀浆, 4 °C、12 000 g 离心10 min后, 分光光度计检测上清中蛋白浓度. (2)上清加入上样缓冲液后99 °C 10 min变性, 置于-70 °C保存. (3)制作10% SDS-PAGE, 按100 μg /孔蛋白加样, 100 V电泳2.5 h分离蛋白后, 200 mA 60-70 min将分离的蛋白转印至硝酸纤维素膜(NC膜)上. (4)NC膜用含0.1% Tween 20的TBS液溶解的5% BSA室温封闭1 h, 分别加入兔PSD95(1:300)抗体和兔P-Synapsin抗体(1:200)4 °C孵育过夜, 以小鼠 β -actin抗体(1:400)作为内参. (5)用含0.1% Tween 20的TBS溶液洗膜10 min \times 3次, 加入相应二抗室温孵育1 h. (6)洗膜10 min \times 3次, ECL(PIERCE, USA)显色、曝光. Quantity-One图像分析软件分析条带A值, 目的蛋白A值/Actin A值为该蛋白的相对表达强度.

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 应用SPSS13.0软件进行方差齐性检验和单因素方差分析(ANOVA)比较各组间差异. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 PSD95和Synapsin- I mRNA的表达 糖尿病病程中对对照组各期大鼠的PSD95和Synapsin- I mRNA表达无显著变化. 糖尿病组中2 wk组PSD95 mRNA表达与造模前正常大鼠无明显差异, 从4 wk组开始糖尿病组大鼠PSD95 mRNA表达均较同期对照组大鼠显著下降($P<0.01$, $t = 2.92, 3.15, 4.21$), 且随着病程进展, 表达呈明显下降趋势($P<0.05$, $F = 2.79$)(图1A). 同样, 2 wk组大鼠Synapsin- I mRNA与造模前没有明显差异, 从4 wk组开始糖尿病大鼠Synapsin- I mRNA表达逐渐下降($P<0.05$, $F = 3.13$), 与同期对照组大鼠相比糖尿病大鼠Synapsin- I mRNA表达显著减少($P<0.01$, $t = 3.01, 3.74, 4.53$)(图1B).

2.2 PSD95和P-Synapsin- I 的蛋白表达 糖尿病组中2 wk组PSD95蛋白表达均与造模前正常大鼠

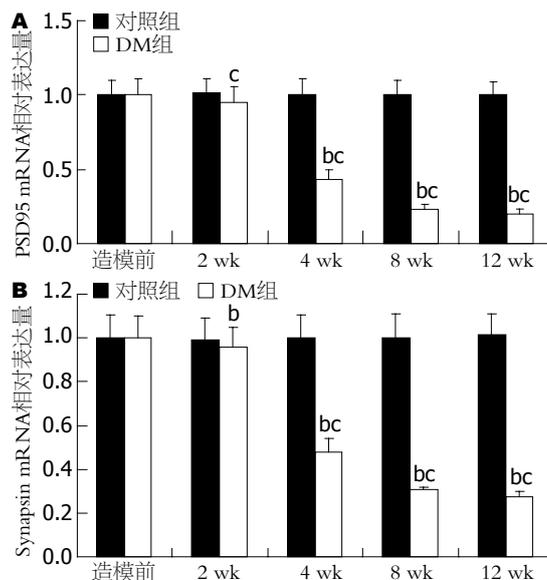


图1 实时荧光半定量PCR方法分析糖尿病进程中胃窦PSD95和Synapsin- I mRNA表达. A: PSD95 mRNA; B: Synapsin- I mRNA. ^a $P<0.01$ vs 对照组; ^b $P<0.05$ vs 糖尿病模型大鼠其他组.

无明显差异, 从4 wk组开始糖尿病组大鼠PSD95蛋白表达相比同期对照组大鼠显著减少($P<0.01$, $t = 2.87, 2.95, 3.37$), 且随着病程进展, 表达呈明显下降趋势($P<0.05$, $F = 3.41$)(图2A). 同样, 2 wk组大鼠P-Synapsin- I 蛋白表达与造模前没有明显差异, 从4 wk组开始糖尿病大鼠P-Synapsin- I 蛋白表达逐渐下降($P<0.05$, $F = 3.27$), 与同期对照组大鼠相比糖尿病大鼠P-Synapsin- I 蛋白表达显著减少($F<0.01$, $t = 2.97, 3.11, 3.23$)(图2B). 糖尿病病程中对对照组之间, 各期大鼠的PSD95和P-Synapsin- I 蛋白表达无显著变化.

3 讨论

相关研究显示, 1型糖尿病超过50%而2型糖尿病约30%的患者存在胃排空障碍^[13,14], 但是目前DGP的治疗方法并不理想, 有待于进一步深入研究. 考虑到糖尿病胃排空障碍的主要发病机制之一是ENS发生病变^[2], 神经细胞之间, 神经细胞与平滑肌细胞间神经递质及电信号传递障碍造成的胃肠动力紊乱. 既往的研究^[15]认为脑神经和外周神经具有神经突触可塑性, 即突触^[16]在一定条件下调整功能, 改变形态和增减数目的能力, 在结构和功能上有自身修复的能力. 那么ENS突触是否同样具有可塑性? 需要我们进一步研究, 探索ENS突触形态功能的可塑性, 探讨糖尿病DGP和ENS突触可塑性的关系, 进而寻求致ENS突触重塑的治疗方法.

应用要点

本研究提示DGP胃排空障碍与肠神经系统突触功能障碍相关, 肯定了两种突触相关蛋白PSD95和P-Synapsin- I 在DGP病理机制中的重要性, 为今后的治疗研究提供了观察指标, 从而进一步探讨ENS的突触重塑可能性.

■名词解释

突触可塑性: 神经系统内进行信息传递的结构基础-突触在其结构以及功能方面的可变性被称为突触可塑性. 突触可塑性与神经系统的发育、损伤后的修复以及学习记忆的完成密切相关. 在各种生理和病理因素作用下, 突触的结构、数量和功能可发生变化从而信号强度.

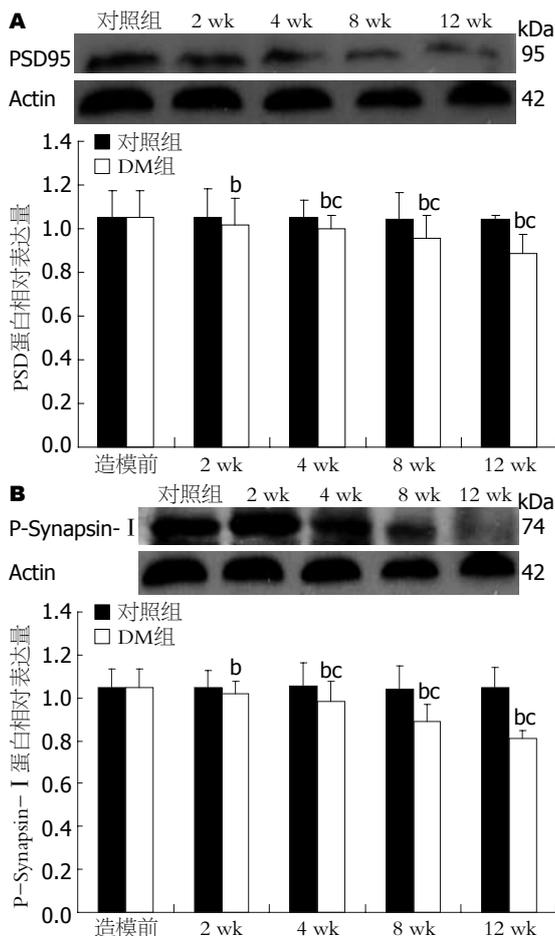


图2 Western blot方法分析糖尿病进程中胃窦PSD95和P-Synapsin-I蛋白表达. A: PSD蛋白; B: P-Synapsin-I蛋白. ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^{bc} $P < 0.05$ vs 糖尿病模型大鼠其他组.

在既往对糖尿病DGP造模的研究中, 腹腔注射1% STZ破坏胰腺 β 细胞诱1型糖尿病的造模方法已被广泛认可, 制备的模型具有糖尿病典型三多一少症状, 且具有稳定不可逆性, 适合用于糖尿病慢性并发症的研究. Ordög等的研究认为糖尿病大鼠饲养过程中, 具备下列两种情况之一者视为糖尿病DGP模型: (1)大鼠大便量和性状与对照组有持续性的明显差别; (2)胃肠推进指标检测和正常对照组有显著差异^[17,18]. Song等研究认为糖尿病小鼠病程4-5 wk后胃排空显著延迟, 故糖尿病大鼠造模4, 8, 12 wk组可视为DGP模型组^[9]. 刘劲松等^[8]研究也证实, STZ给药6 wk后糖尿病大鼠肌间神经丛基本无nNOS染色阳性神经, 已经存在神经病变, 可作为DGP模型进行研究. 因此, 本研究采取STZ造模的方法作为DGP模型来研究ENS突触可塑性机制具有一定的代表性. 又因为胃组织胃窦的肠神经丛比较丰富, 选取了糖尿病DGP大鼠胃窦组织进行比较研究.

本课题选取了PSD95和Synapsin-I两个在突触可塑性研究方面具有重要意义的突触相关蛋白进行研究. Synapsin-I是与突触囊泡相关的特异性磷酸蛋白, 主要是通过磷酸化和去磷酸化作用调节神经递质的释放^[19], 因此检测Synapsin-I的磷酸化水平可以间接反映突触的神经递质传递功能. 既往的研究^[20,21]多局限于脑缺血再灌注, 长时程增强, 抑郁症等神经分化的领域. 糖尿病其他并发症如糖尿病视网膜病变、糖尿病脑病也有相关的研究, 其重要性获得广泛肯定, 但是尚未见Synapsin-I在糖尿病DGP、ENS方面的相关报道. 本研究发现糖尿病DGP大鼠胃窦组织中P-Synapsin-I的表达量下降, 且随着疾病进展逐渐减少. 提示了在糖尿病进程中ENS突触发生了可塑性变化, 从而导致了胃动力的减弱, 且Synapsin-I在糖尿病DGP ENS病变发生过程中起着重要的作用, ENS突触结构和功能的减退与Synapsin-I的表达减少密切相关.

PSD是神经细胞质膜下的细胞骨架网, Ziff等研究报道其位于神经递质引发的突触区离子流及第二信使级联反应的关口途径, 介导着突触后信号分子, 调节分子和靶分子之间的相互作用^[22]. PSD形态结构^[23]具有很大的可塑性或易变性, 在突触后的结构发育及功能活动依赖性的可塑性中都有重要意义. 其中PSD95作为重要的骨架蛋白是突触敏感的结构和形态学指标^[24]. 电镜免疫组织化学技术显示PSD-95紧靠突触后膜, 离突触后膜平均距离仅12 nm, 因此更易于与突触后膜各种蛋白分子相互作用, 起着影响神经递质传递的关键作用^[25]. 既往的研究报道, 在创伤性脑损伤^[26], 老年痴呆等疾病的预后转归中, PSD95通过影响突触结构和功能的重塑发挥着重要的作用^[4]. 本研究显示了PSD95在糖尿病DGP大鼠胃窦组织的表达量减少, 提示其不仅主导着中枢神经系统中突触功能的维持, 而且在外周神经系统, ENS突触病变所致胃肠功能减弱中同样发挥着重要作用.

本研究还显示糖尿病大鼠早期2 wk组时Synapsin-I和PSD95表达上与正常大鼠没有明显区别, 从第4周开始无论是基因表达还是蛋白表达均显著降低, 并随着病程进展有明显下降趋势. 这与本课题组之前形态学电镜方面的研究报道, 糖尿病大鼠第4周开始, 胃内ENS出现明显形态学改变相一致.

杨小军等^[27]曾研究报道, 慢性感染大鼠模

型中, 突触可塑性变化与肠道的内脏高敏感性, 肠道动力增强有关。而本研究也发现Synapsin-I 和PSD95在糖尿病DGP大鼠胃窦组织中的表达量减少, 在糖尿病的发病机制中起着重要的作用, 糖尿病DGP与ENS突触可塑性变化密切相关。由此推测ENS也具有突触功能形态可塑性。然而这种可塑性改变是否能作为治疗靶点, 从中期待通过某些治疗方法促进胃窦组织中Synapsin-I 和PSD95恢复表达, ENS突触的形态和功能能得到相应改善, 实现对ENS突触的重塑还需进一步研究。寻找能上调ENS中Synapsin-I 和PSD95表达的药物^[28]或者其他治疗方法, 如胃电刺激^[29,30], 电针治疗^[31,32]等, 将成为糖尿病DGP治疗的前景。

4 参考文献

- 1 罗丹, 刘诗. 糖尿病性胃轻瘫的胃动力异常机制. 胃肠病学 2007; 12: 372-374
- 2 柯美云, 蓝宇. 糖尿病胃肠并发症的动力障碍及其机制. 中华内分泌代谢杂志 2003; 19: 164-165
- 3 陆广华, 滕香宇, 任颖, 范吴强, 周岷, 刘伟. 糖尿病胃动力障碍和促胃动力药的作用. 中华内分泌代谢杂志 2003; 19: 212-215
- 4 李小黎, 田金洲, 盛树力, 赵志伟, 徐意, 姬志娟. 复方金思维对阿尔茨海默病大鼠脑组织突触后致密区蛋白95表达的影响与安慰剂及盐酸多奈哌齐干预效果的比较. 中国临床康复 2005; 9: 139-141
- 5 何祥, 冯龚. 电刺激对脑梗死大鼠突触界面结构的影响. 中国临床康复 2004; 8: 6900-6901
- 6 梁燕玲, 张苏明, 许康. 短暂脑缺血再灌注后大鼠突触蛋白-I的表达及其磷酸化水平. 中风与神经疾病杂志 2004; 21: 196-198
- 7 杨林, 魏良洲, 田宇彬, 李延青. 血糖变化对糖尿病大鼠胃排空功能与胃促生长素表达的影响. 中华消化杂志 2007; 27: 221-224
- 8 刘劲松, 乔娟, 侯晓华, 陈建德. 胃电起搏对糖尿病胃轻瘫大鼠胃电节律异常和胃排空延迟的治疗作用. 中华消化杂志 2004; 24: 615-616
- 9 Song GQ, Chen JD. Synchronized gastric electrical stimulation improves delayed gastric emptying in nonobese mice with diabetic gastroparesis. *J Appl Physiol* 2007; 103: 1560-1564
- 10 唐永凯, 贾永义. 荧光定量PCR数据处理方法的探讨. 生物技术 2008; 18: 89-91
- 11 Bensaid M, Melko M, Bechara EG, Davidovic L, Berretta A, Catania MV, Gecz J, Lalli E, Bardoni B. FRAXE-associated mental retardation protein (FMR2) is an RNA-binding protein with high affinity for G-quartet RNA forming structure. *Nucleic Acids Res* 2009; 37: 1269-1279
- 12 Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408
- 13 Horowitz M, O'Donovan D, Jones KL, Feinle C, Rayner CK, Samsom M. Gastric emptying in diabetes: clinical significance and treatment. *Diabet Med* 2002; 19: 177-194
- 14 Lin Z, Forster J, Sarosiek I, McCallum RW. Treatment of diabetic gastroparesis by high-frequency gastric electrical stimulation. *Diabetes Care* 2004; 27: 1071-1076
- 15 Singer W. Development and plasticity of cortical processing architectures. *Science* 1995; 270: 758-764
- 16 易玮, 许能贵, 汪国斌. 电针对局灶性脑缺血大鼠突触可塑性促进作用的实验研究. 中国中西医结合杂志 2006; 26: 710-714
- 17 商文静, 王继红, 陈辉, 程大林. SCF在糖尿病胃轻瘫大鼠胃壁中表达的研究. 重庆医科大学学报 2006; 31: 824-826
- 18 Ordög T, Takayama I, Cheung WK, Ward SM, Sanders KM. Remodeling of networks of interstitial cells of Cajal in a murine model of diabetic gastroparesis. *Diabetes* 2000; 49: 1731-1739
- 19 梁燕玲, 常丽英, 梅爱农, 孟宪芳, 张旻, 张苏明. 突触蛋白-I 在胚胎干细胞体外神经分化过程中的表达变化. 中华神经医学杂志 2007; 6: 245-249
- 20 Ferreira A, Rapoport M. The synapsins: beyond the regulation of neurotransmitter release. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 589-595
- 21 Kao HT, Song HJ, Porton B, Ming GL, Hoh J, Abraham M, Czernik AJ, Pieribone VA, Poo MM, Greengard P. A protein kinase A-dependent molecular switch in synapsins regulates neurite outgrowth. *Nat Neurosci* 2002; 5: 431-437
- 22 Ziff EB. Enlightening the postsynaptic density. *Neuron* 1997; 19: 1163-1174
- 23 李亚, 吴馥梅. 突触后致密结构的一些研究进展. 神经解剖学杂志 1999; 15: 293-295
- 24 沈爱国, 高尚锋, 程纯, 赵剑, 陈梦玲, 李欣, 牛淑琼. 突触后密度蛋白-95在大鼠脊髓发育过程中的表达变化. 中国临床解剖学杂志 2007; 25: 419-423
- 25 Petersen JD, Chen X, Vinade L, Dosemeci A, Lisman JE, Reese TS. Distribution of postsynaptic density (PSD)-95 and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II at the PSD. *J Neurosci* 2003; 23: 11270-11278
- 26 费舟, 章翔. 弥漫性脑损伤与突触后密度蛋白. 国际神经病学神经外科学杂志 2006; 33: 350-353
- 27 杨小军, 官阳, 钱伟, 沈蕾, 侯晓华. 突触可塑性在肠道感染大鼠模型内脏高敏感形成中的意义. 中华消化杂志 2008; 28: 660-665
- 28 黎彬如. 蛇毒神经生长因子与神经可塑性. 国际神经病学神经外科学杂志 2006; 33: 288-291
- 29 Abell TL. Gastric electric stimulation is a viable option in gastroparesis treatment. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: E8-E13
- 30 Maranki J, Parkman HP. Gastric electric stimulation for the treatment of gastroparesis. *Curr Gastroenterol Rep* 2007; 9: 286-294
- 31 李文波, 刘诗. 针刺疗法治疗功能性肠疾病的研究进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 197-200
- 32 丁曙晴, 丁义江, 季新涛, 韩皓梅, 孙明明, 霍维宇, 黄书亮, 耿建祥. 针刺对便秘模型大鼠PGP9.5表达的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2184-2188

■同行评价

本文具有较好的创新性, 数据充分, 具有较好的参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

SUMO-1在实验性大鼠肝纤维化形成过程中的作用

肖志华, 郭武华, 张吉翔

■背景资料

肝纤维化(HF)已成为一个危害人类生命健康的世界性问题,如果能阻止其发生,肝硬化及其并发症就能得到有效控制.随着分子生物学的发展,许多研究进一步阐明了HF发病的分子机制,对HF的信号转导通路的研究结果显示有多条通路参与了HF的发生发展.SUMO-1是小泛素相关修饰物(SUMO)一员,他在HF发生、发展的过程中起着重要的作用.

肖志华, 郭武华, 张吉翔, 南昌大学第二附属医院消化内科江西省南昌市 330006

肖志华, 南昌大学研究生院医学部在读硕士, 主要从事消化内科专业.

国家自然科学基金资助项目, No. 30360037

作者贡献分布: 肖志华与张吉翔对此文所作贡献均等; 此课题由张吉翔与郭武华设计; 研究过程由肖志华操作完成; 研究用新试剂及分析工具由张吉翔提供; 数据分析由肖志华与郭武华完成; 本论文写作由肖志华与张吉翔完成.

通讯作者: 张吉翔, 教授, 330006, 江西省南昌市, 南昌大学第二附属医院消化内科. jixiangz@tom.com

收稿日期: 2010-03-17 修回日期: 2010-04-24

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-05-18

Role of small ubiquitin-related modifier-1 in the pathogenesis of hepatic fibrosis in rats

Zhi-Hua Xiao, Wu-Hua Guo, Ji-Xiang Zhang

Zhi-Hua Xiao, Wu-Hua Guo, Ji-Xiang Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30360037

Correspondence to: Professor Ji-Xiang Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. jixiangz@tom.com

Received: 2010-03-17 Revised: 2010-04-24

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To observe the changes in the expression of small ubiquitin-related modifier-1 (SUMO-1) during the formation of hepatic fibrosis in rats and to investigate the role of SUMO-1 in the pathogenesis of hepatic fibrosis.

METHODS: Ninety male Sprague-Dawley rats were divided into two groups: model group and control group. The model group was subcutaneously injected with 40% carbon tetrachloride at a dose of 0.3 mL/100 g of body weight, while the control group was given equivalent volume of normal saline. Liver tissue samples were taken at weeks 2, 4, 6, 8, 10 and 12 after carbon tetrachloride injection. Hepatic fibrosis was pathologically evaluated. The expression of SUMO-1 mRNA and protein in liver tissue was detected by RT-PCR and Western blot, respectively.

■同行评议者

马红, 主任医师, 首都医科大学附属北京友谊医院肝病中心; 秦成勇, 教授, 山东省立医院消化内科

RESULTS: During the formation of hepatic fibrosis, the expression of SUMO-1 mRNA was gradually up-regulated from week 2 to 12 (0.725 ± 0.017 , 0.786 ± 0.018 , 0.803 ± 0.023 , 0.831 ± 0.020 , 0.863 ± 0.016 and 0.892 ± 0.008 , respectively; $P < 0.01$). Similarly, SUMO-1 protein expression was also gradually up-regulated from week 2 to 12 (0.810 ± 0.059 , 0.873 ± 0.049 , 0.923 ± 0.055 , 0.959 ± 0.032 , 0.988 ± 0.011 and 0.998 ± 0.004 , respectively; $P < 0.01$).

CONCLUSION: The expression of both SUMO-1 mRNA and protein is gradually up-regulated during the formation of hepatic fibrosis, suggesting an important role of SUMO-1 in the pathogenesis of hepatic fibrosis.

Key Words: Small ubiquitin-related modifier-1; Transforming growth factor- β 1; Extracellular matrix; Hepatic stellate cell; Hepatic fibrosis

Xiao ZH, Guo WH, Zhang JX. Role of small ubiquitin-related modifier-1 in the pathogenesis of hepatic fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1422-1427

摘要

目的: 探讨小泛素相关修饰物(SUMO-1)在肝纤维化形成中的作用机制.

方法: 将90只♂SD大鼠分为2组: 模型组($n = 50$)和对照组($n = 40$), 对模型组给予40% CCl_4 3 $\mu\text{L/g}$ 皮下注射, 分别于造模后2、4、6、8、10、12 wk取肝组织, 同时给予对照组等量的生理盐水皮下注射, 且分别在与模型组相同的时间处死动物. 采用病理检查观察肝纤维化形成的变化, RT-PCR检测SUMO-1 mRNA的表达, Western blot检测SUMO-1蛋白的表达, 将各周检测的数据进行分析, 相互比较, 并将各周数据分别与对照组进行比较分析.

结果: 随着肝纤维化至肝硬化的形成, SUMO-1 mRNA在2、4、6、8、10、12 wk的表达逐渐增强(0.725 ± 0.017 、 0.786 ± 0.018 、 0.803 ± 0.023 、 0.831 ± 0.020 、 0.863 ± 0.016 、 0.892 ± 0.008 , $P < 0.01$). Western blot显示SUMO-1的蛋

白表达在2、4、6、8、10、12 wk也是同时逐渐增强(0.810±0.059、0.873±0.049、0.923±0.055、0.959±0.032、0.988±0.011、0.998±0.004, $P<0.01$).

结论: SUMO-1基因及蛋白表达在肝纤维化形成过程中逐渐增强, 说明其在肝纤维化形成过程中具有重要的意义.

关键词: 小泛素相关修饰物-1; 转化生长因子- β 1; 细胞外基质; 肝星状细胞; 肝纤维化

肖志华, 郭武华, 张吉翔. SUMO-1在实验性大鼠肝纤维化形成过程中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1422-1427
http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1422.asp

0 引言

小泛素相关修饰物(small ubiquitin related modifier, SUMO)是泛素(Ubiquitin)类蛋白家族的重要成员之一, 其与蛋白的共价连接是一种新的蛋白质翻译后加工形式. 虽然SUMO的生化反应途径与泛素相似, 但SUMO不诱导底物蛋白降解. SUMO化能够使蛋白质更加稳定并参与细胞核内的一系列生理过程, 如核运输、信号传递、细胞周期调控及基因表达调控等. 本研究通过观察SUMO-1的mRNA及蛋白质表达的变化, 并探讨SUMO-1在肝纤维化形成过程中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠80只, δ , 体质量250 g±30 g, 购自南昌大学医学院动物学部. PCR热循环仪(GeneAmp[®] PCR System 9600), Western blot仪器(Bio-Rad Corporation), GeneGenius Match(Syngene, 美国)全自动凝胶成像分析系统. TRIzol(Invitrogen, 美国); RT-PCR试剂: Oligo(dT)(Promega, 美国), M-MLV RT 5×Buffer (Promega, 美国), dNTP(Generay Biotech, 美国), Rnase抑制剂(Promega, 美国), M-MLV逆转录酶(Promega, 美国), Master Mix(天根公司)、DNA Ladder(天根公司); Western blot试剂: 总蛋白提取试剂(Appligen, 美国), SUMO-1一抗(兔多克隆抗体, Abzoom, 美国), β -actin一抗(兔多克隆抗体, Santa Cruz, 美国), 辣根过氧化物酶标记Streptavidin(Beyotime, 美国).

1.2 方法

1.2.1 造模及分组: 随机将其分为模型组($n=50$)和对照组($n=40$), 模型组给予40% CCl_4 3 $\mu\text{L/g}$ 皮下注射, 分别于造模后2、4、6、8、10、12

wk处死动物, 每次处死6只, 造模过程中死亡14只(6 wk时死亡2只, 为注射部位溃烂而死, 8 wk时死亡3只, 为注射部位溃烂感染而死, 10 wk时死亡3只, 肝硬化腹水而死, 12 wk时死亡6只, 肝硬化腹水而死). 对照组给予等量的生理盐水, 分别在相同时间处死动物, 每次处死6只, 自然死亡4只. 对照组和模型组每次分别取1 cm×1 cm×1 cm肝组织经40 g/L中性缓冲甲醛固定后行病理检查, 剩余肝组织液氮罐中冻存后以行逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测和Western blot检测.

1.2.2 组织病理学: 100 g/L甲醛固定的肝组织, 石蜡包埋, 制作4 μm 切片, 脱蜡, 梯度乙醇水化, PBS冲洗, Weigert铁苏木素染色5 min, 冲水, 苦味酸-酸性品红染色2-5 min, 然后水洗, 乙醇分化, 脱水, 透明, 封片.

1.2.3 RT-PCR检测SUMO-1 mRNA表达: 肝组织总RNA的提取按TRIzol试剂盒操作说明进行, SUMO-1上游引物为5'-AGGAGGCAAAACCTTCAACT-3', 下游引物为5'-TTCTTCCTCCATTCCAGTT-3', 扩增DNA片段大小为245 bp. β -actin: 上游引物为5'-ACACTGTGCCATCTACGAGG-3', 下游引物为5'-AGGGGCCGACTCGTCATACT-3', 扩增DNA片段大小为621 bp. 反应分两步进行, 取总RNA 5 μg , 在M-MLV逆转录酶作用下逆转录为cDNA, 以此为模板, 分别按以下条件进行PCR反应, 扩增SUMO-1条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min, 51 $^{\circ}\text{C}$ 退火45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min, 30个循环, 最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min. 扩增 β -actin条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min, 52 $^{\circ}\text{C}$ 退火45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min, 30个循环, 最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min. PCR反应产物5 μL 在1.5%琼脂糖凝胶上电泳30 min(80 V)图像分析仪采集图像, 以 β -actin为基准, 做半定量分析, 即以扩增目的片段与 β -actin的灰度比值表示所扩增的目的基因片段的相对表达水平.

1.2.4 Western blot检测蛋白的表达: 按分子克隆操作指南方法, 用抽提试剂提取各阶段肝组织总蛋白样品, 考马斯亮蓝染色测定样品浓度并调整上样量至50 μg . 12%的SDSPAGE凝胶电泳. 纤维素滤膜印迹, 而后依次以含5%脱脂奶粉TBST溶液封闭、山羊抗小鼠SUMO-1抗体4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 辣根过氧化物酶标记二抗孵育, 电化学发光试剂盒显色, 经曝光、显影、定影后照相. 全自动数码成像系统扫描分析靶蛋白条带, 以其灰度值作为蛋白表达的相对水平.

统计学处理 所有数据经SAS统计软件统计

■ 研发前沿

SUMO-1是参与肝纤维化的重要细胞因子之一, 而且可以修饰众多导致肝纤维化的细胞因子, 肝组织SUMO-1表达的上调是导致细胞外基质过度合成、沉积的重要原因. 通过干预SUMO-1分子表达有望成为抗肝纤维化的有效途径.

■创新盘点

本文用RT-PCR和Western blot的方法直接检测肝纤维化进展过程中肝组织中SUMO-1表达量的变化,分析其与肝纤维化发生的可能关系.

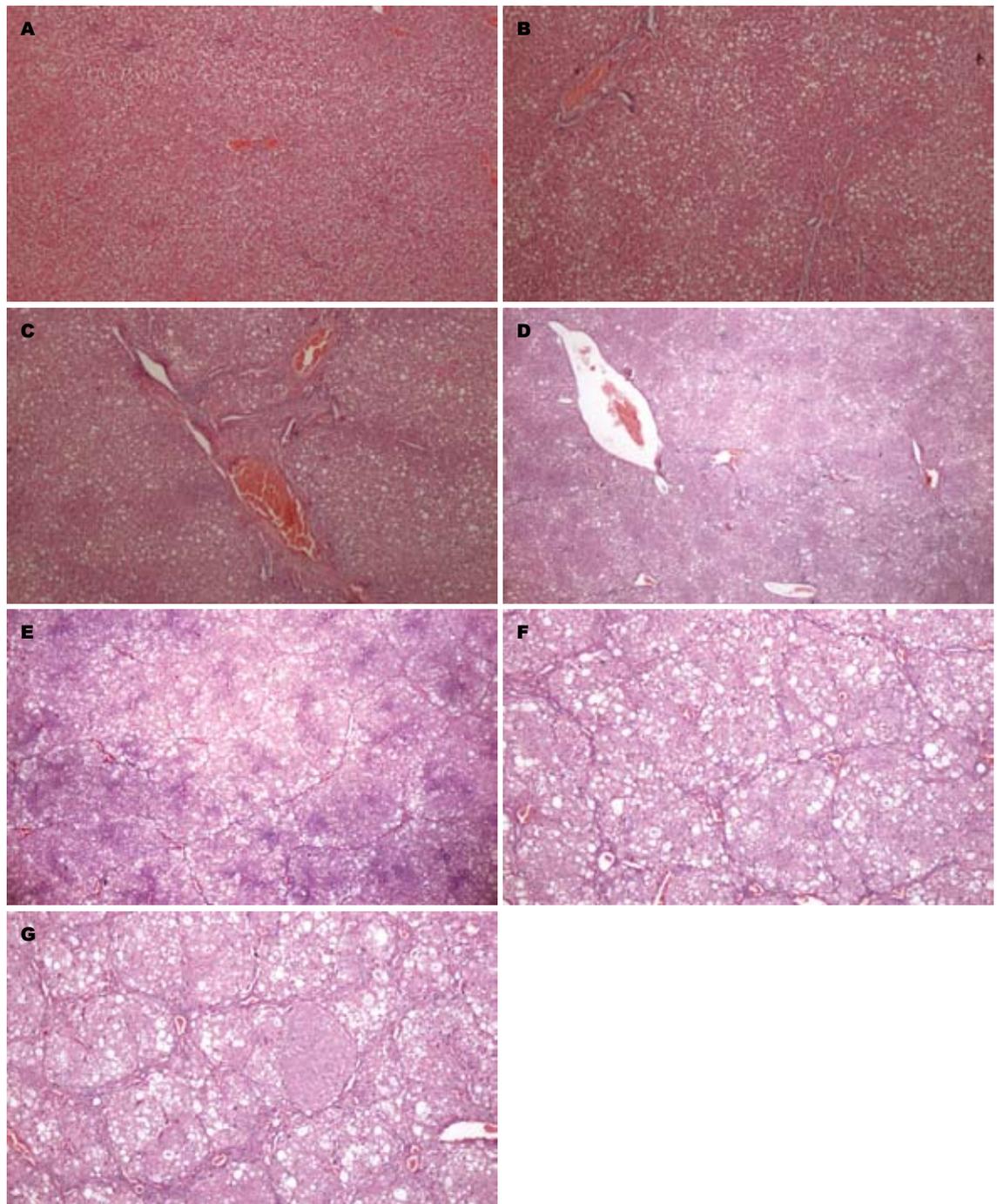


图1 大鼠肝脏组织病理学特征(HE × 40). A: 正常组; B: 模型组2 wk; C: 模型组4 wk; D: 模型组6 wk; E: 模型组8 wk; F: 模型组10 wk; G: 模型组12 wk.

分析, 多组间比较采用方差分析, 两两比较采用LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 大鼠肝脏组织病理学特征 正常大鼠肝脏内未见明显染色, 对照组大鼠皮下注射生理盐水处理后, 病理表现与正常大鼠肝脏一致, 肝细胞排列整齐, 无炎细胞浸润, 无纤维间隔形成, 未见明显染色纤维(图1A). 2 wk时, 可见脂肪滴形成, 肝

细胞坏死, 肝小叶结构不甚完整, 多数肝细胞气球样变性, 汇管区部分炎性细胞浸润(图1B). 4 wk时肝细胞气球样变明显, 见有灶性坏死, 肝小叶及汇管区内大量淋巴, 单核细胞浸润, 纤维间隔开始形成, 可少纤维束形成(图1C), 6 wk时较之前纤维束增多, 纤维间隔逐渐形成(图1D). 8 wk时, 可见汇管区条索状染色纤维向肝小叶内伸展, 逐渐分割肝小叶, 提示纤维间隔形成明显(图1E). 10 wk可见汇管区条索状染色纤维越

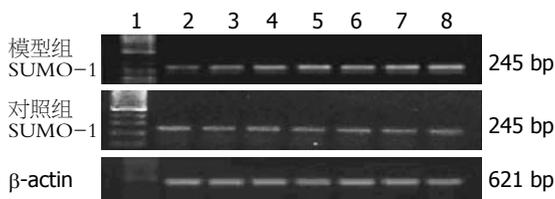


图 2 SUMO-1基因转录水平趋势图. 1: Marker; 2: 正常组; 3: 2 wk; 4: 4 wk; 5: 6 wk; 6: 8 wk; 7: 10 wk; 8: 12 wk.

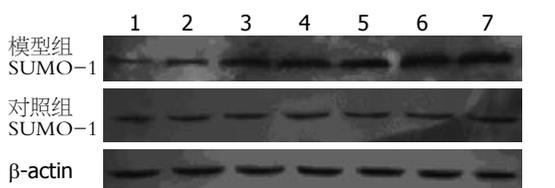


图 3 SUMO-1蛋白表达水平趋势图. 1: 正常组; 2: 2 wk; 3: 4 wk; 4: 6 wk; 5: 8 wk; 6: 10 wk; 7: 12 wk.

来越多, 形成纤维束, 包绕再生结节, 肝小叶明显(图1F). 12 wk时, 可见汇管区条索状染色纤维更多, 形成纤维束, 提示肝硬化明显形成(图1G), 同一时间点各个标本表现均一致.

2.2 各组织mRNA表达 通过RT-PCR扩增出长度为245 bp的SUMO-1 cDNA片段, 与正常及对照组大鼠相比, 注射CCl₄ 2 wk后, SUMO-1基因转录水平受到轻微的诱导而升高, 4 wk其表达明显增强, 第8周时表达更强. 至12 wk最强, 而生理盐水对照组随着时间递增表达无明显增强. 各阶段灰度扫描和β-actin比值与对照组比较, 差异有显著性(图2), 在前后相差为2 wk的比较中, 差异无显著性. 但在前后相差4 wk甚至更长时间的比较中, 差异均有显著性($F = 72.346, P < 0.01$, 表1).

2.3 Western blot检测各组织蛋白的表达 正常及对照组大鼠SUMO-1无明显表达, 相对分子质量17 000 Da处未见明显条带, 模型组大鼠皮下注射CCl₄ 2 wk后, 相对分子质量17 000 Da处可见阳性条带, 蛋白出现少量表达, 注射CCl₄ 4 wk后, 条带增强, 蛋白表达进一步增强, 8 wk蛋白条带更宽, 蛋白表达更强. 至第12周, 蛋白条带更宽, 蛋白表达最强, 而生理盐水对照组随着时间递增无明显增强(图3). SUMO-1的Western blot各阶段灰度扫描和β-actin比值与对照组比较, 差异有显著性, 在前后相差为2 wk的比较中, 差异无显著性. 但在前后相差4 wk甚至更长时间的比较中, 差异均有显著性($F = 25.671, P < 0.01$, 表1).

3 讨论

肝纤维化常见病因在我国以乙型或丙型病毒

表 1 PCR及Western blot各阶段灰度扫描和β-actin比值结果 (n = 6)

分组	RT-PCR结果	Western blot结果
对照组		
2 wk	0.714 ± 0.005	0.716 ± 0.059
4 wk	0.680 ± 0.076	0.756 ± 0.057
6 wk	0.709 ± 0.008	0.750 ± 0.061
8 wk	0.711 ± 0.006	0.749 ± 0.054
10 wk	0.713 ± 0.006	0.763 ± 0.048
12 wk	0.724 ± 0.007	0.763 ± 0.052
模型组		
2 wk	0.725 ± 0.017 ^b	0.810 ± 0.059
4 wk	0.786 ± 0.018 ^b	0.873 ± 0.049
6 wk	0.803 ± 0.023 ^b	0.923 ± 0.055
8 wk	0.831 ± 0.020 ^b	0.959 ± 0.032
10 wk	0.863 ± 0.016 ^b	0.988 ± 0.011
12 wk	0.892 ± 0.008 ^b	0.998 ± 0.004

^bP < 0.01 vs 同实验同阶段对照组.

性肝炎为最多, 20%-30%慢性丙型肝炎患者最终出现严重的肝纤维化或肝硬化病变. 在西方国家以慢酒精中毒为主要病因, 其中60%-70%最终可发展为肝硬化. 关于肝纤维化机制及其防治的研究, 近年来已成为国内外生物学、医学研究的热点之一^[1-3]. 近年来关于泛素相关小修饰蛋白家族中的SUMO-1的修饰、调控功能的研究很多. 目前已知哺乳动物的SUMO家族成员有: SUMO-1、SUMO-2、SUMO-3和SUMO-4. SUMO-1具有家族成员共同特性: C端均有一个向外伸展的突出端; 但不同SUMO氨基酸序列是不同的^[4], SUMO-1在经过由三个酶的修饰后, 与靶蛋白共价连接, 并参与蛋白质与蛋白质之间的相互作用, 调控靶蛋白在细胞内的分布. 其主要机制是通过阻碍泛素对靶蛋白的共价修饰, 提高靶蛋白的稳定性. 此外, SUMO-1还参与DNA的复制修复以及转录调控过程^[5]. SUMO化能够使蛋白质更加稳定, 参与细胞核内的一系列生理过程, 如核运输、信号传递、细胞周期调控, 以及基因表达的调控等. 近年研究证实SUMO参与了过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)-γ、核转录因子(nuclear transcription factor, NF)-κB及TGF-β1等通路的信号传递.

肝纤维化是一切慢性肝病的共同病理基础, 其实质是组织发生修复反应时细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成、降解与沉积不平衡而引起的病理过程^[6]. 在肝纤维化的过程

■名词解释

SUMO-1: 小泛素相关修饰物(SUMO)是泛素(Ubiquitin)类蛋白家族的重要成员之一. 其与蛋白的共价连接是一种新的蛋白质翻译后加工形式. SUMO化能够使蛋白质更加稳定并参与细胞核内的一系列生理过程, 如核运输、信号传递、细胞周期调控及基因表达调控, SUMO-1参与蛋白质与蛋白质之间的相互作用, 调控靶蛋白在细胞内的分布, 还参与DNA的复制修复以及转录调控过程.

■同行评价

本研究选题较好,设计合理,结果可靠,有一定参考价值。

中,肝脏内细胞与细胞、细胞与基质、基质与介质间发生十分复杂的相互作用,细胞内许多基因的表达模式发生异常改变,出现肝细胞的变性、坏死,炎症细胞浸润,细胞因子作用紊乱以及肝组织中细胞外基质的过度产生和沉积等复杂病理变化^[7]。Miyahara等^[8,9]发现PPAR- γ 表达在维持肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)静息状态时有重要作用,当其表达减少时,将可能成为HSC激活进程的早期重要因素。HSC活化合成为大量ECM的机制,一方面可能与其增殖、细胞数量增加有关;另一方面可能与单个HSC合成ECM的能力增强有关。因而抗肝纤维化治疗主要集中在抑制肝脏炎症,抑制HSC的激活和增生并诱导其凋亡,促进肝脏ECM的降解。HSC是参与该过程的重要细胞,HSC的活化增殖是肝纤维化发生机制的中心环节,抑制HSC增殖,诱导其凋亡是抗纤维化的重要策略^[10,11]。

郭武华等^[12]研究表明SUMO-1基因在肝癌及肝癌细胞中高表达而在癌旁肝组织中低表达。本研究旨在观察SUMO-1在大鼠肝纤维化过程中的表达情况,以探讨SUMO-1对肝纤维化的作用。

目前认为HSC激活是肝纤维化形成的关键。病理状态下,HSC可以转化为肌纤维母细胞,分泌大量的胶原而导致肝纤维化甚至肝硬化。HSC的激活受多种细胞因子的影响,TGF- β 1可以通过直接和间接途径对HSC的转化过程起关键性的调节作用,是目前已知的最重要的促HSC活化因子之一^[13],在正常情况下,TGF- β 1与其他细胞因子一起处于一种网络平衡状态,共同维持肝脏内环境的稳定,病理状态下,TGF- β 1可刺激ECM产生,减少其降解,从而使ECM在肝脏大量沉积导致纤维化。在肝纤维化患者和肝纤维化实验模型中,均可见TGF- β 1 mRNA表达水平增加^[14],有实验表明,TGF- β 1通过TGF- β 1/Smad信号途径对I型胶原蛋白的表达有上调作用^[15]。

TGF- β 1通过催化Smad磷酸化,磷酸化的Smad的方法分子形成同源寡聚体或异源寡聚体后进入细胞核,调节相应基因的转录速度,影响细胞的分化,吴晓玲等^[16]研究TGF- β -Smad参与了大鼠实验性肝纤维化的形成与发展,其关键信号分子的表达失调是慢性肝损伤进展为肝纤维化的重要机制。由此促进HSC激活,并转化为肌成纤维样(myofibroblast-like cell, MFLC),诱导活化的HSC收缩,在HSC活化早期刺激ECM的合成与沉积,主要包括I型胶原、III型胶原和

IV型胶原^[17,18],促进肝纤维化的形成。

Miyazono等^[19]总结出SUMO-1可以通过修饰TGF- β 1,从而增强TGF- β 1的信号传导;Kang等^[20]研究出SUMO-1修饰TGF- β 1及TGF- β 2的复合物,被修饰的复合物作用于Smad3,进而增强TGF- β 1的作用;Imoto等^[21]则研究出SUMO-1修饰Smad,进而也增强了TGF- β 1对肝纤维化的促进作用。

血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)近年来发现PDGF可以促进Ito细胞DNA合成及生长,并合成胶原,TGF- β 可加强这种作用。肝受损时,大量分泌的PDGF刺激HSCs增殖,转化为肝纤维样母细胞,肌纤维样母细胞合成大量细胞外基质沉积于肝细胞间质,促进肝纤维化发生;PDGF能够促进肌纤维样母细胞产生胶原,尤其是I型及III型胶原;PDGF通过上调组织金属蛋白酶抑制剂抑制胶原酶的作用,以减少细胞外基质的降解^[22]。

PDGF激活的是丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号途径,包括JNK、ERK和P38。JNK和ERK途径的激活能诱导HSC增殖,P38激活则抑制HSC增殖。PI3K信号途径在PDGF诱导的HSC活化过程中也能被激活,导致Akt和P70激酶活性增加,引起HSC增殖和化学吸引^[23]。

Reigstad等^[24]研究表明SUMO-1可以大量修饰PDGF,增加PDGF的表达。细胞因子分别经TGF- β /Smad通路、MAPK通路、PI3K通路、JAK/STAT信号通路、Wnt信号通路、NF- κ B信号通路、Rho-ROCK信号通路、Vitmin A类信号通路等^[25-28],将刺激信号传递至效应细胞,使基因表达改变。不同因素造成的肝损伤模型及肝损伤的不同阶段,信号通路的作用可能不同,吴文娟等^[29]指出p38MAPK信号传导通路可能通过诱导HSC的活化、增殖,促进HF的形成。SUMO-1通过诱导NF- κ B p100位点磷酸化,从而NF- κ B表达加强^[30]。

本研究发现,正常大鼠肝脏SUMO-1 mRNA表达为弱阳性,且蛋白表达也为弱阳性,说明SUMO-1的mRNA表达及蛋白质翻译过程被抑制在极低的水平,伴随着肝纤维化进展,SUMO-1 mRNA表达逐渐增强,Western blot显示其蛋白质表达和mRNA表达一致,也是逐渐增强,说明SUMO-1参与了肝纤维化的进程。

总之,SUMO-1的表达在肝纤维化的形成以及进展过程中发挥很大作用。SUMO-1可能通过

大量增强TGF- β 1以及PDGF的表达, 进而促进HSC的增殖和活化, 促进其分泌大量胶原, 并减少胶原降解而导致的大量胶原异常沉积, 表现出促进肝纤维化的作用. 甚至通过增强NF- κ B通路的表达, 导致肝纤维化的结果. 总之SUMO-1是TGF- β 1及其他各种生长因子受体的重要修饰因子, SUMO-1甚至可以修饰其他的生长因子, 维持其蛋白质稳定性, 从而调控肝纤维化甚至是肝癌的发展过程. 因此, 如能通过分子生物学手段抑制SUMO-1的表达, 将有可能成为肝纤维化的又一治疗手段.

4 参考文献

- Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology* 2007; 46: 922-938
- Runyon BA. A pill a day can improve survival in patients with advanced cirrhosis. *Gastroenterology* 2007; 133: 1029-1031
- Salerno F, Gerbes A, Ginès P, Wong F, Arroyo V. Diagnosis, prevention and treatment of hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Gut* 2007; 56: 1310-1318
- Treuter E, Gustafsson JA. Wrestling rules in transrepression: as easy as SUMO-1, -2, -3? *Mol Cell* 2007; 25: 178-180
- Eladad S, Ye TZ, Hu P, Leversha M, Beresten S, Matunis MJ, Ellis NA. Intra-nuclear trafficking of the BLM helicase to DNA damage-induced foci is regulated by SUMO modification. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1351-1365
- Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218
- 李石. 第七讲肝纤维化发生机制. *中华消化杂志* 1999; 19: 48-50
- Miyahara T, Schrum L, Rippe R, Xiong S, Yee HF Jr, Motomura K, Anania FA, Willson TM, Tsukamoto H. Peroxisome proliferator-activated receptors and hepatic stellate cell activation. *J Biol Chem* 2000; 275: 35715-35722
- Zheng S, Chen A. Activation of PPAR γ is required for curcumin to induce apoptosis and to inhibit the expression of extracellular matrix genes in hepatic stellate cells in vitro. *Biochem J* 2004; 384: 149-157
- 郑伟达, 王小众. 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 428-431
- 罗云, 戴立里, 沈鼎明. 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展. *中华肝脏病杂志* 2002; 8: 251
- 郭武华, 袁丽华, 肖志华, 张吉翔. SUMO-1基因在肝癌中的表达及意义. *重庆医学* 2009; 38: 3115-3117
- Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S. Roles of TGF- β in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 2002; 7: d793-d807
- Lin WC, Kuo SC, Lin WL, Fang HL, Wang BC. Filtrate of fermented mycelia from *Antrrodia camphorata* reduces liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2369-2374
- Robert K, Nehmé J, Bourdon E, Pivert G, Friguet B, Delcayre C, Delabar JM, Janel N. Cystathionine beta synthase deficiency promotes oxidative stress, fibrosis, and steatosis in mice liver. *Gastroenterology* 2005; 128: 1405-1415
- 吴晓玲, 曾维政, 蒋明德, 秦建平, 徐辉. 肝纤维化大鼠肝组织Smads基因表达状况及意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1037-1041
- Chen YW, Li DG, Wu JX, Chen YW, Lu HM. Tetrandrine inhibits activation of rat hepatic stellate cells stimulated by transforming growth factor-beta in vitro via up-regulation of Smad 7. *J Ethnopharmacol* 2005; 100: 299-305
- Kharbanda KK, Rogers DD 2nd, Wyatt TA, Sorrell MF, Tuma DJ. Transforming growth factor-beta induces contraction of activated hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2004; 41: 60-66
- Miyazono K, Kamiya Y, Miyazawa K. SUMO amplifies TGF- β signalling. *Nat Cell Biol* 2008; 10: 635-637
- Kang JS, Saunier EF, Akhurst RJ, Derynck R. The type I TGF- β receptor is covalently modified and regulated by sumoylation. *Nat Cell Biol* 2008; 10: 654-664
- Imoto S, Ohbayashi N, Ikeda O, Kamitani S, Muromoto R, Sekine Y, Matsuda T. Sumoylation of Smad3 stimulates its nuclear export during PIASy-mediated suppression of TGF- β signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 370: 359-365
- 王萍. 血小板衍生生长因子与肝纤维化. *国外医学·消化疾病分册* 2000; 20: 40
- Reif S, Lang A, Lindquist JN, Yata Y, Gabele E, Scanga A, Brenner DA, Rippe RA. The role of focal adhesion kinase-phosphatidylinositol 3-kinase-akt signaling in hepatic stellate cell proliferation and type I collagen expression. *J Biol Chem* 2003; 278: 8083-8090
- Reigstad LJ, Martinez A, Varhaug JE, Lillehaug JR. Nuclear localisation of endogenous SUMO-1-modified PDGF-C in human thyroid tissue and cell lines. *Exp Cell Res* 2006; 312: 782-795
- Bièche I, Asselah T, Laurendeau I, Vidaud D, Degot C, Paradis V, Bedossa P, Valla DC, Marcellin P, Vidaud M. Molecular profiling of early stage liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Virology* 2005; 332: 130-144
- Takahara Y, Takahashi M, Zhang QW, Wagatsuma H, Mori M, Tamori A, Shiomi S, Nishiguchi S. Serial changes in expression of functionally clustered genes in progression of liver fibrosis in hepatitis C patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2010-2022
- Töx U, Scheller I, Kociok N, Kern MA, Klanac D, Daudi SM, Laue O, Schirmacher P, Goeser T, Schulte S, Steffen HM. Expression of angiotensin II receptor type 1 is reduced in advanced rat liver fibrosis. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 1995-2005
- Utsunomiya T, Okamoto M, Hashimoto M, Yoshinaga K, Shiraishi T, Tanaka F, Mimori K, Inoue H, Watanabe G, Barnard GF, Mori M. A gene-expression signature can quantify the degree of hepatic fibrosis in the rat. *J Hepatol* 2004; 41: 399-406
- 吴文娟, 杨妙芳, 许小兵, 张晓华, 季洪赞, 袁柏思, 朱人敏. p38MAPK在大鼠实验性肝纤维化发生中的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3822-3827
- Vatsyayan J, Qing G, Xiao G, Hu J. SUMO1 modification of NF- κ B2/p100 is essential for stimuli-induced p100 phosphorylation and processing. *EMBO Rep* 2008; 9: 885-890

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

内脏高敏感大鼠结肠5-羟色胺转运体蛋白的表达

孙程程, 迟雁, 王化虹, 谢鹏雁

■背景资料

内脏高敏感性被认为是胃肠道功能性疾病最重要的病理生理改变之一, 很多研究发现5-羟色胺及其转运体在内脏敏感性升高的病理生理机制中发挥重要的作用。

孙程程, 迟雁, 王化虹, 谢鹏雁, 北京大学第一医院消化内科北京市 100034

孙程程, 2008年北京第一医院消化内科博士, 主要从事消化系统疾病研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30600275

作者贡献分布: 孙程程、迟雁及王化虹对此文所作贡献均等, 谢鹏雁指导; 此课题由孙程程、迟雁及王化虹设计; 研究过程由孙程程操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由迟雁与王化虹提供; 数据分析由孙程程、迟雁及王化虹完成; 本论文写作由孙程程、迟雁及王化虹完成。

通讯作者: 王化虹, 教授, 100034, 北京市, 北京大学第一医院消化内科, wanghuahong@medmail.com.cn

收稿日期: 2010-03-08 修回日期: 2010-04-21

接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-05-18

Serotonin transporter expression in rats with chronic visceral hypersensitivity

Cheng-Cheng Sun, Yan Chi, Hua-Hong Wang, Peng-Yan Xie

Cheng-Cheng Sun, Yan Chi, Hua-Hong Wang, Peng-Yan Xie, Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30600275

Correspondence to: Professor Hua-Hong Wang, Department of Gastroenterology, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China. wanghuahong@medmail.com.cn

Received: 2010-03-08 Revised: 2010-04-21

Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To determine whether colonic serotonin transporter (SERT) expression is altered in rats with visceral hypersensitivity and to explore the possible mechanism underlying the pathogenesis of visceral hypersensitivity.

METHODS: A rat model of visceral hypersensitivity was created by intracolonic injection of acetic acid between postnatal days 8 and 21. The expression of SERT mRNA and protein in the colonic epithelium was detected by RT-PCR and immunohistochemistry, respectively. The levels of serotonin in plasma and colonic tissue were also measured.

RESULTS: Colon irritation in neonates resulted in chronic visceral hypersensitivity in the absence of identifiable peripheral pathology.

Under different capacities the abdominal withdrawal reflex (AWR) score in rats with chronic visceral hypersensitivity was significantly higher than that in controls ($P < 0.01$). Although plasma serotonin content significantly increased in rats with visceral hypersensitivity compared to controls (95.75 ± 15.99 vs 72.17 ± 8.01 , $P < 0.01$), no significant difference was noted in colonic serotonin content between the two groups. SERT immunoreactivity in colonic epithelium was significantly reduced in rats with visceral hypersensitivity (0.187 ± 0.010 vs 0.191 ± 0.011 , $P < 0.01$), whereas a significant increase was noted in SERT mRNA level in the colon of rats with visceral hypersensitivity compared to controls (16.02 ± 3.7 vs 9.47 ± 2.34 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: In visceral hypersensitivity, the increase in serotonin content is mainly due to decreased degradation of the protein. The expression and function of SERT may be different in serotonergic neurons compared to colonic epithelial mucosa cells.

Key Words: Visceral hypersensitivity; 5-hydroxytryptamine; Serotonin transporter

Sun CC, Chi Y, Wang HH, Xie PY. Serotonin transporter expression in rats with chronic visceral hypersensitivity. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1428-1433

摘要

目的: 探讨5-羟色胺转运体蛋白(SERT)在内脏高敏感性中的作用, 为功能性胃肠病的发病机制研究提供理论基础。

方法: 采用乳鼠醋酸灌肠建立大鼠慢性内脏高敏感动物模型, 同时设立对照组。待乳鼠成年后应用直肠内球囊扩张评估腹壁撤离反射(AWR)的方法, 评估其内脏敏感性; 检测髓过氧化物酶(MPO)评价其肠道黏膜炎症程度; 用RT-PCR方法评价大鼠结肠SERT的mRNA水平, 免疫组织化学方法评价大鼠结肠SERT的表达; 用ELISA方法检测血浆和结肠组织5-HT水平。

结果: 乳鼠醋酸灌肠建立的大鼠慢性内脏高

■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

敏感模型组与对照组相比HE染色显示结肠黏膜未见明显急、慢性炎症改变; 两组大鼠结肠组织MPO水平没有显著性差异; 在不同容量下的AWR评分慢性内脏高敏感模型组显著高于对照组($P<0.01$). 血浆5-HT水平慢性内脏高敏感模型组明显高于对照组(95.75 ± 15.99 vs 72.17 ± 8.01 , $P<0.01$), 而两组结肠组织5-HT含量没有明显差异. 免疫组织化学研究显示内脏高敏感模型组结肠上皮SERT表达水平显著低于对照组(0.187 ± 0.010 vs 0.191 ± 0.011 , $P<0.01$), 而其结肠SERT mRNA水平显著高于对照组(16.02 ± 3.7 vs 10.05 ± 2.12 , $P<0.01$).

结论: 内脏高敏感大鼠外周5-HT水平的增高主要来源于其灭活的减少而非合成的增加, 与SERT的关系密切, 结肠SERT可能具有不同的亚型和功能.

关键词: 内脏高敏感; 5-羟色胺; 5-羟色胺转运体

孙程程, 迟雁, 王化虹, 谢鹏雁. 内脏高敏感大鼠结肠5-羟色胺转运体蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1428-1433
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1428.asp>

0 引言

目前, 内脏高敏感性被认为是胃肠道功能性疾病最重要的病理生理改变之一^[1], 其机制迄今为止仍未完全阐明. 近年来一些研究揭示了胃肠道功能性疾病中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)信号系统的改变^[2-6]. 5-HT转运体蛋白(serotonin transporter, SERT)作为5-HT失活最重要的蛋白, 是影响局部5-HT浓度及其生物活性的重要物质, 选择性5-HT再摄取抑制剂可作用于5-HT转运体, 抑制5-HT的再摄取, 增高突触间隙中的5-HT浓度, 在临床应用中发现此类药能有效缓解一些IBS患者的症状, 尤其是腹痛症状^[7], 因而SERT可能在内脏高敏感性的产生过程中起到重要的作用. 目前对SERT在胃肠道功能性疾病中的表达所进行的研究结果差异很大, 内脏高敏感性与SERT表达的关系的研究甚少. 本文采用幼年早期的胃肠道刺激建立慢性内脏高敏感模型, 通过这个模型, 检测SERT的表达及外周和结肠局部5-HT水平, 探讨SERT在内脏高敏感性中的作用, 为SERT在内脏高敏感性中的作用提供理论依据, 并为功能性胃肠病的发病机制研究提供理论基础.

1 材料和方法

1.1 材料 新生SD大鼠, ♂, 每10-12只与其母鼠共

同饲养在同一箱内, 发育至25 d后, 将母鼠与幼鼠分离. 分离后的大鼠每笼4只, 自由饮水、喂以标准饲料. 所有大鼠均在安静室温下饲养, 室温25 °C昼夜控制为12 h周期. 实验用大鼠由北大医院实验动物中心提供. ELISA试剂盒购自ADL公司, 兔抗5-HT转运体购自Merck公司, 髓过氧化物酶(MPO)检测试剂盒购自南京建成生物研究所, TRIzol购自美国Invitrogen公司, dNTP购自Gibco公司, 逆转录酶M-MLV、随机引物购自美国Promega公司. 引物和探针序列由上海生工生物工程股份有限公司合成, 余试剂均为市售分析纯.

1.2 方法

1.2.1 大鼠高敏感模型的建立: 参照Al-Chaer以及刘雁冰等的方法^[8,9], 并稍作修改, 新生SD大鼠16只随机分为2组: 高敏感组(醋酸灌肠组, A组)和对照组(盐水灌肠组, B组). 出生后第8-21天内, A组大鼠每天直肠内给予0.6%醋酸刺激, 建立内脏高敏感性模型; B组大鼠每天直肠内给予0.9%生理盐水, 作为对照. 从第21天后的3 wk内不进行任何实验操作, 至大鼠体质量达到180 g以上(第7周)开始实验. 实验前1 d禁食, 为消除生物节律对实验结果的影响, 均于8:00开始实验.

1.2.2 肠道敏感性的测定: (1)评估方法: 行直肠扩张(colorectal distention, CRD)实验, 观察大鼠的腹部撤离反射(abdominal withdrawal reflex, AWR)作为敏感性的评价指标. 将大鼠放在特制的透明塑料笼(20 cm×8 cm×8 cm)内, 清醒状态下, 将石蜡油润滑后的Fogarty(6 F)导管经肛门插入, 气囊末端距离肛门2 cm, 待大鼠适应环境20 min, 进行直肠扩张. 导管球囊内快速注入生理盐水(37 °C)0.3、0.4、0.5 mL扩张肠道, 观察所引起的腹部撤离反射(AWR). 每次直肠扩张持续20 s, 间隔3 min. 为得到准确的评估结果, 对每一容量都重复进行5次扩张, 数据取中位数. AWR计分标准: 0分: 对扩张无反应; 1分: 偶尔扭头; 2分: 腹背部肌肉轻微收缩但腹部未抬离地面; 3分: 腹背部肌肉较强收缩并把腹部抬离地面; 4分: 腹肌强烈收缩, 背部拱起, 腹部、盆部及会阴部抬离地面.

1.2.3 评价肠道炎症: (1)结肠组织HE染色: 在第7周时处死2组大鼠, 取其距肛门4 cm处降结肠, 40 g/L甲醛固定, 依次乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切成4 μm厚度切片, HE染色. (2)MPO测定: 取大鼠1 cm降结肠部分, 与1 mL冰生理盐水匀浆, 稀释成5%的浓度, 按试剂盒操作步骤采用生化法检测MPO水平.

■ 研发前沿
内脏高敏感大鼠模型分析其肠黏膜上皮细胞中5-羟色胺与5-羟色胺转运体之间相互作用的机制仍需进一步研究.

■ 相关报道

很多研究表明在IBS患者及内脏高敏感动物模型中5-羟色胺含量增多,也有研究表明在IBS患者结肠炎动物模型中5-羟色胺转运体表达减少。

1.2.4 5-HT浓度的检测: (1)大鼠结肠组织5-HT水平的测定: 参照Coates等的研究^[10], 处死大鼠后, 迅速取距离肛门约6 cm的降结肠组织约0.5 cm, 称取质量, 按10 mL/g的比例加入0.2 mol/L的高氯酸匀浆沉淀蛋白. 4 °C, 10 000 g, 离心5 min. 吸取上清液, 加入等体积的1 mol/L的硼酸盐缓冲液中和(pH9.25), 4 °C, 10 000 g, 离心1 min. 取上清液50 μL按试剂盒步骤操作, 用ELISA方法测定5-HT含量. 反应结束后, 在30 min内于波长450 nm的酶标仪上读取各孔的A值. 以A值为纵坐标, 标准品的浓度为横坐标, 绘制曲线图, 根据样品的A值查找对应的浓度, 再计算每毫克组织中的5-HT含量, 以μg/g组织表示. (2)大鼠血浆5-HT水平的测定: 取大鼠肠系膜上动脉血, 4 °C, 10 000 g, 离心5 min, 取上清同样应用上述方法测定血浆5-HT含量, 单位以mg/L表示.

1.2.5 结肠上皮SERT的免疫组织化学表达: 参照以往研究方法^[11], 取大鼠距肛门3 cm处降结肠, 40 g/L多聚甲醛固定4 °C过夜, 30%蔗糖脱水4 °C过夜, OCT包埋, 液氮冷冻, -70 °C保存; 取包埋好的标本, 置于恒冷切片机上, -20 °C恒温下切片, 片厚10 μm, 常规方法进行免疫组织化学染色. 兔抗SERT浓度为1:3 000. 每张切片连续测定5个视野, 用计算机图像分析系统(LEICA Q550CW)对上皮层的灰度值进行分析, 以显示SERT表达的相对含量.

1.2.6 结肠SERT mRNA水平: 参照以往研究方法^[11], 应用实时定量PCR对大鼠结肠组织SERT mRNA的表达水平进行分析(TaqMan法). 取距肛门约5 cm处结肠, 用常规方法进行总RNA提取和cDNA合成. 在50 μL体系中, 应用标准曲线法进行SERT的Real-Time PCR(Real-Time7300system, ABI公司), 95 °C 10 min, 95 °C 15 s, 60 °C 1 min 40循环. 管家基因为β-actin. SERT的引物及探针序列分别为5'-CCATCAGC CCTCTGTTTCTC-3'、5'-GGACGACATCCCT ATGCAGT-3'和5'-CCCACCCAGCTACGGC TTTTCC-3'. β-actin的引物和探针序列分别为5'-CCCTGGCTCCTAGCACCAT-3'、5'-AGAGC CACCAATCCACACAGA-3'和5'-AAGATCATT GCTCCTCCTGAGCGCAAGTA-3'.

统计学处理 本研究所有资料均以mean ± SD表示. 用SPSS13.0软件对资料检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性. 大鼠AWR评分采用Mann-Whitney检验, 两组间的其他比较采用独立样本的t检验.

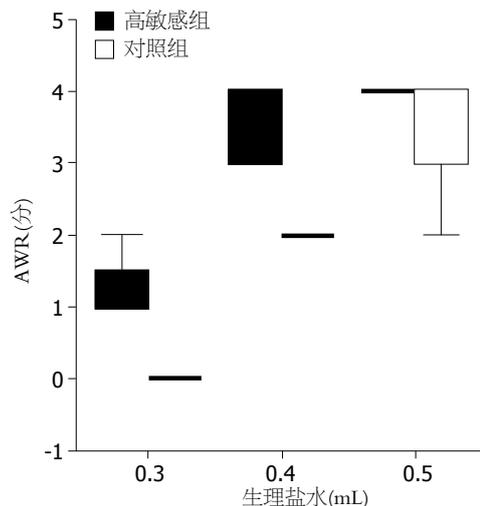


图1 两组大鼠内脏敏感性比较.

2 结果

2.1 大鼠内脏高敏感模型的建立 2组大鼠的敏感性测定显示在不同扩张容量下, AWR评分在醋酸灌肠组均显著高于对照组(图1). 两组大鼠均未发现明显组织学炎症表现. 醋酸组大鼠MPO水平为 0.042 ± 0.008 , 对照组大鼠为 0.047 ± 0.014 , 二者相比无显著性差异($P = 0.438$). 提示幼鼠结肠刺激后到成年结肠不具有明显的炎症改变, 而可以引起成年大鼠的内脏高敏感性.

2.2 5-HT水平测定 内脏高敏感组大鼠的血浆5-HT含量为 $95.75 \text{ mg/L} \pm 15.99 \text{ mg/L}$, 较对照组($72.17 \text{ mg/L} \pm 8.01 \text{ mg/L}$)明显增高($P < 0.01$, 图2A). 两组结肠组织5-HT水平差异无显著性($4.55 \text{ μg/g} \pm 1.13 \text{ μg/g}$ vs $4.90 \text{ μg/g} \pm 1.80 \text{ μg/g}$, $P = 0.553$, 图2B).

2.3 结肠上皮SERT的表达 免疫组织化学显示SERT在大鼠结肠黏膜上皮层、神经丛、及肌间神经丛均有染色, 但主要表达于上皮层, 几乎所有的上皮细胞均表达SERT. 内脏高敏感组大鼠的结肠上皮层SERT灰度值显著低于对照组(0.187 ± 0.010 vs 0.191 ± 0.011 , $P < 0.05$, 图3).

2.4 结肠SERT mRNA水平 结肠SERT mRNA水平在内脏高敏感组大鼠为 16.02 ± 3.70 , 对照组大鼠为 9.47 ± 2.34 , 二者间差异有显著性($P < 0.05$, 图4).

3 讨论

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一组多因素引起的原发性慢性疾病, 主要病因包括: 精神因素、遗传因素、感染、食物、神经内分泌因素. 慢性内脏高敏感性是IBS等胃肠道功能性疾病的重要而具有特征性特点^[12], 是

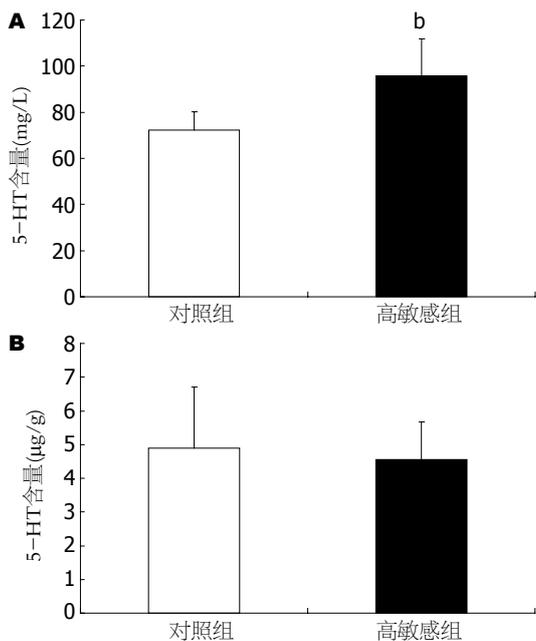


图 2 两组大鼠血浆及结肠组织5-HT含量比较. A: 血浆; B: 结肠组织. ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

引起IBS腹痛和异常肠动力最重要的机制. 已有实验证实幼年时期反复的外周刺激可以导致成年后慢性内脏高敏感性的产生^[8]. 本研究中, 我们用0.5%的醋酸对幼年大鼠进行肠内刺激建立内脏高敏感大鼠模型, 在其成年后发现内脏敏感性增高, 而结肠黏膜没有明显炎症改变. 同时检测该组大鼠黏膜炎症和组织的中性粒细胞浸润的标志物髓过氧化物酶(MPO)^[13]. 与对照组相比, 内脏高敏感大鼠MPO没有明显的变化, 提示本动物模型很好的模拟了IBS等胃肠道功能性疾病的慢性内脏敏感性的特点, 可用于胃肠道功能性疾病的慢性内脏敏感性相关机制的研究.

5-HT是一种分布广泛的单胺类物质, 在人体内约95%的5-HT存在于胃肠嗜铬细胞中^[14]. 近年来研究发现IBS患者存在外周5-HT水平的异常^[15-18]. 5-HT由肠道嗜铬细胞以及神经系统摄取色氨酸或胺前体合成, 在发挥生理作用后必须灭活, 以免产生中毒反应及5-HT受体的脱敏. 这个过程主要依靠肠黏膜上皮细胞膜上的5-HT转运体来完成, 5-HT能神经元也可表达5-HT转运体将5-HT再摄取. SERT作为介导细胞外5-HT重摄取的重要膜蛋白, 广泛分布于肠上皮细胞、中枢和外周的神经元以及血小板^[19]. 高亲和力的SERT对5-HT的清除是十分重要的, 是维持中枢和肠道突触间5-HT稳态环境的重要物质^[20]. 目前, 肠黏膜SERT的表达对5-HT生理活性的影响及其在胃肠道功能性疾病的发病过程

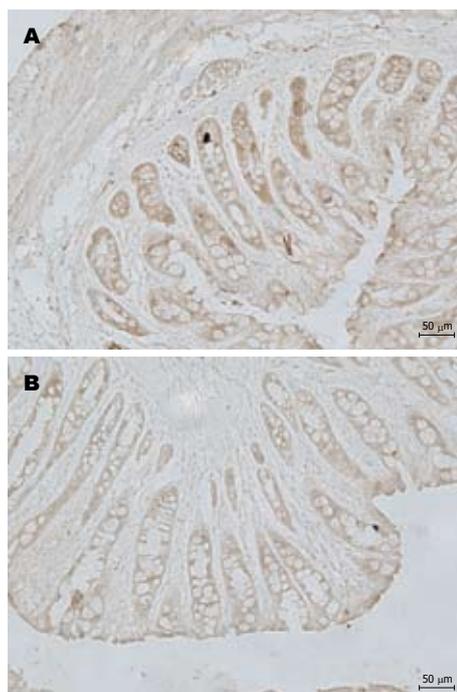


图 3 两组大鼠结肠上皮SERT的表达. A: 对照组; B: 高敏感组.

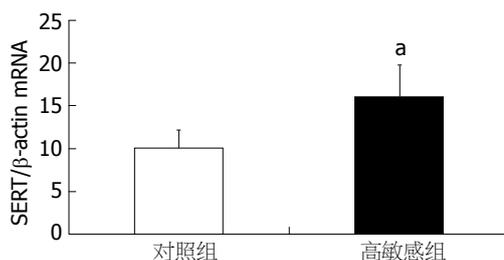


图 4 两组大鼠结肠SERT mRNA水平比较. ^a $P < 0.05$ vs 对照组.

中的作用正成为研究的热点. 在这些研究中, 有很多关于SERT基因多态性的研究, SERT基因多态性与IBS各型间可能存在联系, 尚有待多中心、大样本的SERT基因多态性的研究, 以进一步揭示其中的复杂关系^[21-23]. 此外, 有研究认为腹泻型IBS患者的病理异常与5-HT再摄取减少相关^[24], Coates等研究发现IBS患者肠黏膜的SERT水平是减低的^[10], 但最近亦有研究显示IBS患者的SERT表达是正常的^[25], 提示SERT表达的异常及在内脏高敏感性产生中的作用需要进一步探讨. 人和大鼠的SERT基因编码序列有很大的同源性, 分布也大致相同^[26]. 在肠道, SERT主要表达于黏膜和肠神经系统^[27]. 本研究中, 免疫组织化学显示SERT主要分布于大鼠结肠黏膜的上皮层, 几乎所有的结肠上皮细胞都表达SERT. 在慢性内脏高敏感模型中, 与对照组相比, 结肠组织SERT的表达减低. 许多研究显示

■ 创新盘点
 在本实验中, 选取内脏高敏感大鼠模型分析其肠黏膜上皮细胞中5-羟色胺与5-羟色胺转运体的含量, 并初步分析二者之间的关系.

■应用要点

5-羟色胺重摄取抑制剂曾用于临床治疗IBS,对二者之间关系深入的研究可能为今后的治疗提供新的靶点.

血浆5-HT可以被用来评估胃肠道5-HT的释放水平^[28], IBS患者血中5-HT有可能升高. 此模型中, 慢性内脏高敏感组血浆5-HT水平增高而结肠5-HT含量不变, 可能与慢性内脏高敏感性结肠组织SERT的表达减低相关, 是结肠局部5-HT经过SERT的作用结果, 同时提示内脏高敏感模型中5-HT水平的变化可能主要是由于5-HT失活的减少而不是合成的增加造成的.

我们的研究还发现慢性内脏高敏感大鼠结肠的SERT mRNA水平的表达显著高于对照组, 这似乎与免疫组织化学的研究结果相矛盾, 但也正说明SERT mRNA受血中5-HT和结肠局部5-HT影响的结果, 可能为结肠上皮减少的SERT表达引起的对SERT mRNA的负反馈作用. 另一种解释考虑到肠道的神经元细胞与上皮细胞均能合成SERT蛋白^[27], 与免疫组织化学进行的上皮细胞的表达研究不同, mRNA主要检测的是结肠全层的SERT mRNA水平, 包括上皮细胞层的SERT和黏膜下及肌间神经丛的SERT; 而最近相关的研究发现一些前炎症细胞因子对于上皮细胞和神经元的SERT的功能具有不同的作用^[29,30], 因此, mRNA的研究结果可能基于上皮细胞和神经元SERT表达的综合作用, 而这两种SERT在高敏感动物中的变化和功能值得进一步探讨.

总之, 内脏高敏感性作为IBS等胃肠功能性疾病重要的生物学特征之一, 由于其复杂的病理生理特征, 其产生机制至今仍是讨论的热点. 我们的实验显示了内脏高敏感大鼠具有结肠上皮SERT的低表达, 这种SERT的变化引起了5-HT水平的变化, 为阐明5-HT系统在内脏高敏感性中的作用提供了依据, 而增高的结肠SERT mRNA水平的改变提示上皮细胞和神经元可能具有不同的SERT的表达和功能, 其确切的机制尚待进一步研究.

4 参考文献

- Ohman L, Simrén M. New insights into the pathogenesis and pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 201-215
- 丁建华, 傅传刚, 赵荣华, 丁健华, 傅传刚. 5-羟色胺在胃肠道功能性疾病中的研究现状. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2405-2408
- 姜敏, 凌立平, 傅宝玉. 肠易激综合征患者结肠5-HT的分布特点. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 541-543
- 夏岷, 刘希双, 鞠辉. 肠易激综合征患者肠黏膜SP、SPR和5-HT的变化. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3169-3173
- 陈文科, 邹益友, 李富军, 罗丹. 肠易激综合征精神心理因素、肠黏膜肥大细胞及5-羟色胺的变化. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 46-50
- 张晓敏, 林志辉. 5-羟色胺转运体与肠易激综合征. *国*

- 际消化病杂志 2006; 26: 172-174
- Creed F, Fernandes L, Guthrie E, Palmer S, Ratcliffe J, Read N, Rigby C, Thompson D, Tomenson B. The cost-effectiveness of psychotherapy and paroxetine for severe irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2003; 124: 303-317
- Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 2000; 119: 1276-1285
- 刘雁冰, 袁耀宗, 陶然君, 翟祖康, 陈红专. 大鼠肠道高敏感性模型的建立及其内脏敏感性评估. *中华消化杂志* 2003; 23: 34-37
- Coates MD, Mahoney CR, Linden DR, Sampson JE, Chen J, Blaszyk H, Crowell MD, Sharkey KA, Gershon MD, Mawe GM, Moses PL. Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004; 126: 1657-1664
- Linden DR, Chen JX, Gershon MD, Sharkey KA, Mawe GM. Serotonin availability is increased in mucosa of guinea pigs with TNBS-induced colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G207-G216
- Tian XY, Bian ZX, Hu XG, Zhang XJ, Liu L, Zhang H. Electro-acupuncture attenuates stress-induced defecation in rats with chronic visceral hypersensitivity via serotonergic pathway. *Brain Res* 2006; 1088: 101-108
- Rachmilewitz D, Simon PL, Schwartz LW, Griswold DE, Fondacaro JD, Wasserman MA. Inflammatory mediators of experimental colitis in rats. *Gastroenterology* 1989; 97: 326-337
- Gershon MD. Review article: roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13 Suppl 2: 15-30
- Houghton LA, Atkinson W, Whitaker RP, Whorwell PJ, Rimmer MJ. Increased platelet depleted plasma 5-hydroxytryptamine concentration following meal ingestion in symptomatic female subjects with diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *Gut* 2003; 52: 663-670
- Miwa J, Echizen H, Matsueda K, Umeda N. Patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome (IBS) may have elevated serotonin concentrations in colonic mucosa as compared with diarrhea-predominant patients and subjects with normal bowel habits. *Digestion* 2001; 63: 188-194
- 詹丽杏, 许国铭, 李兆申, 邹多武, 金震东, 屠振兴. 肠易激综合征患者活动期和缓解期血浆5-HT、5-HIAA的变化. *第二军医大学学报* 2003; 24: 152-154
- Bearcroft CP, Perrett D, Farthing MJ. Postprandial plasma 5-hydroxytryptamine in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome: a pilot study. *Gut* 1998; 42: 42-46
- Chen JX, Pan H, Rothman TP, Wade PR, Gershon MD. Guinea pig 5-HT transporter: cloning, expression, distribution, and function in intestinal sensory reception. *Am J Physiol* 1998; 275: G433-G448
- Narboux-Nême N, Pavone LM, Avallone L, Zhuang X, Gaspar P. Serotonin transporter transgenic (SERT^{Cre}) mouse line reveals developmental targets of serotonin specific reuptake inhibitors (SSRIs). *Neuropharmacology* 2008; 55: 994-1005
- Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Müller CR, Hamer DH,

- Murphy DL. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996; 274: 1527-1531
- 22 Park JM, Choi MG, Park JA, Oh JH, Cho YK, Lee IS, Kim SW, Choi KY, Chung IS. Serotonin transporter gene polymorphism and irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 995-1000
- 23 Yeo A, Boyd P, Lumsden S, Saunders T, Handley A, Stubbins M, Knaggs A, Asquith S, Taylor I, Bahari B, Crocker N, Rallan R, Varsani S, Montgomery D, Alpers DH, Dukes GE, Purvis I, Hicks GA. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. *Gut* 2004; 53: 1452-1458
- 24 Atkinson W, Lockhart S, Whorwell PJ, Keevil B, Houghton LA. Altered 5-hydroxytryptamine signaling in patients with constipation- and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2006; 130: 34-43
- 25 Camilleri M, Andrews CN, Bharucha AE, Carlson PJ, Ferber I, Stephens D, Smyrk TC, Urrutia R, Aerssens J, Thielemans L, Göhlmann H, van den Wyngaert I, Coulie B. Alterations in expression of p11 and SERT in mucosal biopsy specimens of patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2007; 132: 17-25
- 26 张雪梅, 颜寿琪. 5-羟色胺转运体研究进展. *生理科学进展* 1997; 28: 345-348
- 27 Wade PR, Chen J, Jaffe B, Kassem IS, Blakely RD, Gershon MD. Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointestinal tract. *J Neurosci* 1996; 16: 2352-2364
- 28 Sikander A, Rana SV, Prasad KK. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome. *Clin Chim Acta* 2009; 403: 47-55
- 29 Foley KF, Pantano C, Ciolino A, Mawe GM. IFN-gamma and TNF-alpha decrease serotonin transporter function and expression in Caco2 cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G779-G784
- 30 Zhu CB, Blakely RD, Hewlett WA. The proinflammatory cytokines interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha activate serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31: 2121-2131

■同行评价

本文研究了内脏高敏感大鼠结肠SERT的表达情况, 对探讨IBS等胃肠功能性疾病的发病机制提供了实验依据, 学术价值较好。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种。本版还加大了专家评审力度, 5 500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1 980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页)。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

PARP-1基因多态性与胃癌易感性的关系

康士亮, 李玉民, 何雯婷, 刘涛, 李汛, 周文策, 易剑锋, 曾祥挺

■背景资料

在我国胃癌的发病率和死亡率居各种恶性肿瘤第3位, 甘肃河西地区是我国胃癌的一个高发区, 胃癌的发生是遗传因素与环境因素相互作用的结果, 把遗传和环境两个因素综合探讨胃癌危险因素、发病机制及预防措施是当前科学研究的重要任务。

康士亮, 易剑锋, 曾祥挺, 兰州大学第一临床医学院 甘肃省消化系统肿瘤重点实验室 甘肃省兰州市 730000
李玉民, 刘涛, 兰州大学第二医院 甘肃省消化系统肿瘤重点实验室 甘肃省兰州市 730030
李汛, 周文策, 何雯婷, 兰州大学第一医院普外二科 甘肃省兰州市 730000
康士亮, 2007年兰州大学在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。国家自然科学基金资助项目, No. 30870364
作者贡献分布: 此课题为导师李玉民课题的一部分, 由康士亮、李玉民、何雯婷、刘涛、李汛及周文策设计; 研究过程由康士亮、易剑锋及曾祥挺完成; 标本收集由康士亮、易剑锋及曾祥挺完成; 论文的撰写由康士亮完成; 李玉民资助本研究并对论文校正。
通讯作者: 李玉民, 教授, 730030, 甘肃省兰州市, 兰州大学第二医院, 甘肃省消化系统肿瘤重点实验室, lym19621225@hotmail.com
电话: 0931-8942744
收稿日期: 2010-02-01 修回日期: 2010-03-29
接受日期: 2010-04-07 在线出版日期: 2010-05-18

Association between PARP-1 polymorphisms and susceptibility to gastric cancer

Shi-Liang Kang, Yu-Min Li, Wen-Ting He, Tao Liu, Xun Li, Wen-Ce Zhou, Jian-Fen Yi, Xiang-Ting Zeng

Shi-Liang Kang, Jian-Fen Yi, Xiang-Ting Zeng, the First Clinical Medical College of Lanzhou University, Key Laboratory of Digestive System Tumors of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Yu-Min Li, Tao Liu, the Second Affiliated Hospital of Lanzhou University, Key Laboratory of Digestive System Tumors of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Wen-Ting He, Xun Li, Wen-Ce Zhou, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30870364
Correspondence to: Professor Yu-Min Li, the Second Affiliated Hospital of Lanzhou University, Key Laboratory of Digestive System Tumors of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. lmy19621225@hotmail.com
Received: 2010-02-01 Revised: 2010-03-29
Accepted: 2010-04-07 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To investigate the association between the Val762Ala and Lys940Arg polymorphisms of the poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) gene and susceptibility to gastric cancer in a Chinese Han population in He'xi area of Gansu Province.

METHODS: All investigated subjects were divided into two groups: 150 gastric cancer

patients and 152 controls. The SNaPshot single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping method was used to analyze the genotypes of PARP-1 Val762Ala and Lys940Arg. *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) IgG antibody was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results were analyzed using the SPSS16.0 software package.

RESULTS: PARP-1 940 Lys/Arg and 762 Val/Ala genotypes were overrepresented in gastric cancer patients compared with controls ($OR = 2.917$ and 1.685 ; $95\%CI: 1.430-5.947$ and $1.040-2.729$; $P = 0.002$ and 0.034 , respectively). In smoking subjects, the risk of gastric cancer in PARP-1 940 Lys/Arg genotype carriers was 8.430-fold higher than that in Lys/Lys carriers ($OR = 8.340$, $95\%CI: 2.664-26.144$, $P = 0.000$). In drinking subjects, PARP-1 940 Lys/Arg genotype carriers had a 3.333-fold higher risk of gastric cancer than Lys/Lys carriers ($OR = 3.333$, $95\%CI: 1.214-9.155$, $P = 0.015$). In *H.pylori* IgG-positive subjects, PARP-1 762 Ala/Ala genotype carriers had a 2.360-fold increased risk of gastric cancer than Val/Val carriers ($OR = 2.360$, $95\%CI: 1.256-4.433$, $P = 0.007$). The subjects carrying PARP-1 940 Lys/Arg and PARP-1 Ala/Ala or Val/Ala genotypes had a 4.2-fold increased risk of gastric cancer compared with those carrying PARP-1 940 Lys/Lys and PARP-1 762Val/Val genotypes ($OR = 4.200$, $95\%CI: 1.430-12.338$, $P = 0.006$).

CONCLUSION: PARP-1 940Lys/Arg and PARP-1 762Ala/Ala or Ala/Ala genotypes are associated with a higher risk of gastric cancer. There are multiplicative joint effects between PARP-1 940 Lys/Arg genotype and smoking or drinking, between PARP-1 762 Val/Ala or Ala/Ala genotypes and *H.pylori* infection, and between PARP-1 Lys940Arg and PARP-1 Val762Ala genotypes in increasing the risk of gastric cancer.

Key Words: Gastric cancer; Poly(ADP-ribose) polymerase-1; Polymorphism

Kang SL, Li YM, He WT, Liu T, Li X, Zhou WC, Yi JF,

■同行评议者

郑鹏远, 教授, 郑州大学第二附属医院消化科; 王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

Zeng XT. Association between PARP-1 polymorphisms and susceptibility to gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1434-1441

摘要

目的: 探讨聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1(PARP-1)Val762Ala, Lys940Arg基因多态性与甘肃省地区汉族人群胃癌易感性的关系。

方法: 采用多重单碱基延伸SNP分型技术(Multiplex SNaPshot)对甘肃省胃癌高发区河西地区汉族人群中经病理确诊的原发性胃癌150例, 健康对照组152例进行PARP-1基因2个SNP位点基因分型。使用ELISA法检测*H.pylori*感染。

结果: 发现PARP-1 940Lys/Arg基因型分布在胃癌组明显高于对照组($OR = 2.917$, 95%CI: 1.430-5.947, $P = 0.002$); PARP-1 762 Val/Ala基因型分布在胃癌组明显高于对照组($OR = 1.685$, 95%CI: 1.040-2.729, $P = 0.034$)。分层分析显示, 在吸烟人群中, PARP-1 940Lys/Arg基因型携带者患胃癌的风险是Lys/Lys型携带者的8.430倍($OR = 8.340$; 95%CI: 2.664-26.144, $P = 0.000$); 在饮酒人群中, PARP-1 940Lys/Arg基因型携带者患胃癌的风险是Lys/Lys型携带者的3.333倍($OR = 3.333$, 95%CI: 1.214-9.155, $P = 0.015$), 在*H.pylori*感染阳性人群中, PARP-1 762Ala/Ala基因型携带者患胃癌的风险是Val/Val携带者的2.360倍($OR = 2.360$, 95%CI: 1.256-4.433, $P = 0.007$)。同时携带PARP-1 940 Lys/Arg和PARP-1 762Ala/Ala+Val/Ala基因型的个体患胃癌的发病风险是PARP-1 940Lys/Lys和PARP-1 762Val/Val基因型携带者的4.2倍($OR = 4.200$, 95%CI: 1.430-12.338, $P = 0.006$)。

结论: PARP-1 940Lys/Arg和PARP-1 762Ala/Ala或Ala/Ala基因型与中国甘肃地区汉族人群胃癌发病风险增高相关; PARP-1 Lys940Arg与吸烟, 饮酒, PARP-1 Val762Ala与*H.pylori*感染以及PARP-1 Lys940Arg与PARP-1 Val762Ala在胃癌的发病风险中都各自存在着加乘交互效应。

关键词: 胃癌; 聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1; 基因多态性

康士亮, 李玉民, 何雯婷, 刘涛, 李汛, 周文策, 易剑锋, 曾祥挺. PARP-1基因多态性与胃癌易感性的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1434-1441
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1434.asp>

0 引言

胃癌是严重危害人类健康的最常见的恶性肿瘤之一, 目前, 在全球范围内, 胃癌发病率居恶性肿瘤第4位, 其死亡率仅次于肺癌居恶性肿瘤第2位^[1], 在我国胃癌的发病率和死亡率居全部恶性肿瘤第3位^[2]。甘肃河西地区是我国胃癌的一个高发区, 该地区胃癌检出率为7.79%^[3], 高于北京丁士刚等报道的1.95%。胃癌的发生是遗传因素与环境因素相互作用的结果, 在不良环境因素的长期刺激下人体内易感基因发生变化而引起胃癌。在胃癌发生的遗传因素中, 聚腺苷二磷酸核糖聚合酶[poly(ADP ribose) polymerase, PARP]有重要的作用, 聚腺苷二磷酸核糖聚合酶[poly(ADP ribose) polymerase, PARP]是一个能选择性识别并结合DNA缺口的DNA结合蛋白酶, 主要通过修复DNA单链及双链断裂在维持基因组的完整性方面发挥作用^[4,5]。PARP家族共有7个成员, PARP-1是迄今研究得最清楚的一个成员。PARP-1基因存在多个单核苷酸多态性位点, 其中某些位点被报道与恶性肿瘤的易感性相关^[6]。在环境因素中, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)感染与胃癌的发生密切相关。世界卫生组织国际癌症研究机构将*H.pylori*定为I类致癌原^[7]。我国*H.pylori*感染率较高, 在甘肃河西地区胃癌患者中*H.pylori*感染率高达73.5%^[8]。有研究表明, 吸烟, 饮酒等与胃癌发病有关^[9]。本研究选择胃癌高发区甘肃河西地区胃癌患者作为研究对象, 同时取相同地理条件、年龄性别相近的健康人作对照, 对PARP-1 Val762Ala, Lys940Arg多态性与*H.pylori*感染, 吸烟, 饮酒在胃癌发病风险中的作用进一步做分层分析, 从而把遗传和环境两个因素综合起来探索胃癌发生的分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌组150例, 来自甘肃省河西三地区(张掖, 武威, 酒泉), 20岁以上, 在当地居住满20年以上, 三代无族外通婚的汉族居民, 2008-09/2009-11经“二甲”以上医院住院或接受胃镜检查并满足上述条件的汉族居民, 均经组织病理学确诊。健康对照组152例, 来自同一时期该地区的按性别、年龄(± 5 岁)配对, 并排除肿瘤和消化系统疾病的健康汉族志愿者。征得研究对象同意, 并采集以下信息: (1)人口学特征, 如年龄、性别等; (2)吸烟(每日吸2支以上, 连续吸1年以上), 饮酒史(每周饮酒 ≥ 2 次, 每次

■ 研究前沿

聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)作为一种非常重要的DNA修复基因被广泛关注, 目前对于PARP-1的SNP与肿瘤的易感性的研究, 主要集中在生殖系肿瘤、肺癌及乳腺癌等方面, 但有关PARP-1的SNP与胃癌易感性的关系尚不明确。

■相关报道

Lockett等研究显示PARP-1Val762Ala的Ala/Ala基因型能增加前列腺癌的易感性,降低酶的活性.曹文辉等研究发现PARP-1基因变异与法国人群乳腺癌增高相关.Motoko Shiokawa等研究发现,PARP-1的多态性与多种肿瘤易感性相关,在其高度保守的接触反应区存在的两个多态位点Val762Ala和Lys940Arg.

≥100 g,持续时间至少达半年).每位研究对象自愿贡献外周静脉血5 mL(EDTA抗凝),-70 °C冰箱保存.

1.2 方法

1.2.1 血清*H.pylori*免疫印迹分型检测:血清*H.pylori*免疫印迹试剂盒购自深圳伯劳特公司,使用幽门螺杆菌IgG酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测是否有*H.pylori*感染,按实验操作步骤进行.

1.2.2 基因多态性位点分型:采用全血基因组DNA提取系统(非离心柱型)抽提外周血基因组DNA(TaKaRa Bio, Japan). DNA样本取1 μL 1% agarose电泳对其样本进行质量检查以及浓度估计,然后根据估计的浓度将样本稀释到工作浓度5-10 mg/L.利用多重单碱基延伸SNP分型技术(Multiplex SNaPshot)对302个样本进行PARP-1基因Val762Ala, Lys940Arg 2个SNP位点分型.(1)PARP-1基因Val762Ala, Lys940Arg的PCR引物及其延伸引物用Primer3软件设计(http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi). PARP-1Val762Ala的PCR引物及延伸引物分别为:rs1136410F 5'-GCAGGAGGGTTTGCCATTCAC-3'; rs1136410R 5'-CAGACCCTCCCCTGAGCAGAC-3'; 延伸引物:5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGCAGGTTGTCAAGCATTTCC-3'; PARP-1 Lys940Arg的PCR引物及延伸引物分别为rs3219145F 5'-gccagtgtgaaggcctcttct-3'; rs3219145R 5'-tttgacactgtgcttgccttg-3'; 延伸引物:5'-TTTTTTTTTTGTGCTTGCCCTTGGGTAAC-3'; (2)PCR反应体系(20 μL): ddH₂O 13 μL, 10×Buffer I 2 μL, dNTP(10 mmol/L), MgCl₂(25 mmol/L)1.2 μL, Primer(s)2 μL, HotTaq(5 U/μL)0.2 μL, Template(1-5 mg/L)1 μL, DNA. 反应体系中各对引物的浓度rs1136410F/R 1 μmol/L, rs3219145F/R 1 μmol/L. PCR循环程序: 95 °C变性15 min; 94 °C变性40 s, 63 °C退火1 min, 每个循环下降0.5 °C, 72 °C延伸C 1 min 40 s, 共15个循环. 然后94 °C变性20 s, 56 °C退火30 s, 72 °C延伸1.5 min, 共24个循环. 最后72 °C延伸2 min. 结束后4 °C保存.(3)PCR产物纯化: 在10 μL PCR产物中加入1 U SAP酶(Promega)和1 U Exonuclease I 酶(Epicentre), 37 °C温浴1 h, 然后75 °C灭活15 min.(4)SNaPshot多重单碱基延伸反应: 延伸反应体系(10 μL)包括5 μL SNaPshot Multiplex Kit(ABI), 2 μL纯化后多重PCR产物, 1 μL延伸引物混合物, 2 μL超纯水. 反应体系

表1 研究对象的一般特征比较 n(%)

基本特征	正常对照组	胃癌组	P值
年龄(岁)			
(mean ± SD)	58.7 ± 11.2	59.7 ± 9.6	0.394
<60	65(42.8)	61(40.7)	0.712
≥60	87(57.2)	89(59.3)	
性别			
女	49(32.2)	46(30.7)	0.769
男	103(67.8)	104(69.3)	
吸烟			
不吸	86(56.6)	90(60.0)	0.547
吸		60(40.0)	
饮酒			
不饮	74(48.7)	81(54.0)	0.355
饮	78(51.3)	69(46.0)	
<i>H.pylori</i> 感染			
阳性	68(44.7)	102(68.0)	0.000
阴性	84(55.3)	48(32.0)	

P值来自t检验或 χ^2 检验.

中各对引物的浓度: rs1136410SF 0.8 μmol/L, rs3219145SR 0.6 μmol/L. PCR循环程序: 96 °C变性1 min; 然后96 °C变性10 s, 50 °C退火5 s, 60 °C延伸30 s, 共28个循环. 最后60 °C延伸1 min. 结束后4 °C保存.(5)延伸产物纯化: 在10 μL延伸产物中加入1 U SAP酶, 37 °C温浴1 h, 然后75 °C灭活15 min.(6)DNA测序仪(ABI3130XL)测序: 取0.5 μL纯化后的延伸产物, 与0.5 μL Liz120 SIZE STANDARD, 9 μL Hi-DiFormamide(高纯甲酰胺)混匀, 95 °C变性5 min后上ABI3130XL测序仪, 收集的原始数据用GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems Co., Ltd., USA)来分析.

统计学处理 χ^2 检验比较各基因型在两组中的分布差异. 以非条件Logistic回归计算比值比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(confidence interval, CI)评价各基因型与胃癌发病风险的关系. 所用统计学分析软件为SPSS16.0. 所有统计检验均为双侧概率检验.

2 结果

2.1 研究对象一般特征 两组间的年龄, 性别, 吸烟, 饮酒无统计学意义($P>0.05$). 胃癌组*H.pylori*感染率明显高于对照组($P=0.000$, 表1).

2.2 PARP-1Val762Ala, Lys940Arg基因型在两组中的分布及其与胃癌的关系 PARP-1Lys940Arg多态位点有AA, GA, GG3种基因型, 本次实验无基因型为GG的样本(图1). Val762Ala多态位

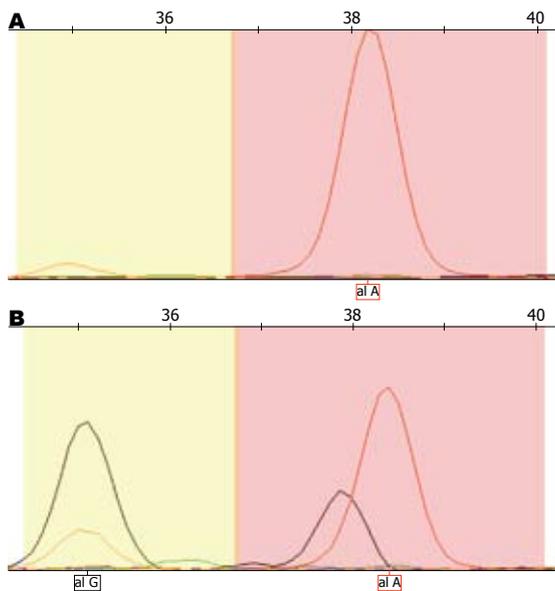


图 1 PARP-1Lys940Arg多态位点. A: AA型; B: GA型.

点有TT, TC, CC3种基因型(图2). Lys940Arg和Val762Ala的基因型频率分布均符合Hardy-Weinberg平衡规律($P = 0.612, 0.174; P = 0.089, 0.589$). 以PARP-1Lys940Arg基因型AA的OR为1.00, PARP-1Lys940Arg基因型GA有显著增高的胃癌发病风险($OR = 2.917, 95\%CI: 1.430-5.947, P = 0.002$). 以PARP-1Val762Ala基因型TT的OR为1.00, Val762Ala基因型TC有显著增高的胃癌发病风险($OR = 1.685, 95\%CI: 1.040-2.729, P = 0.034$, 表2).

2.3 PARP-1Lys940Arg和PARP-1Val762Ala基因型的分层分析 PARP-1Lys940Arg基因多态性与胃癌相关性的分层分析(表3): 在吸烟, 饮酒人群中, Lys940Arg基因型GA患胃癌风险分别是AA型的8.436, 3.333倍($OR = 8.436, 95\%CI: 2.664-26.144, P = 0.000; OR = 3.333, 95\%CI: 1.214-9.155, P = 0.015$). PARP-1Val762Ala基因多态性与胃癌相关性的分层分析(表4), 在H.pylori感染人群中, Val762Ala基因型TC+CC患胃癌风险是TT型的2.360倍($OR = 2.360, 95\%CI: 1.256-4.433, P = 0.007$), 在吸烟, 饮酒中无明显差异.

2.4 PARP-1Lys940Arg与PARP-1Val762Ala在胃癌发病风险中的交互效应 与对照组相比, 在胃癌组中携带PARP-1940Lys/Arg基因型者更可能同时携带PARP-1762Ala/Ala+Val/Ala基因型. 而同时携带PARP-1940Lys/Arg和PARP-1762Ala/Ala+Val/Ala基因型的个体患胃癌的发病风险是PARP-1Lys/Lys和PARP-1Val/Val基因

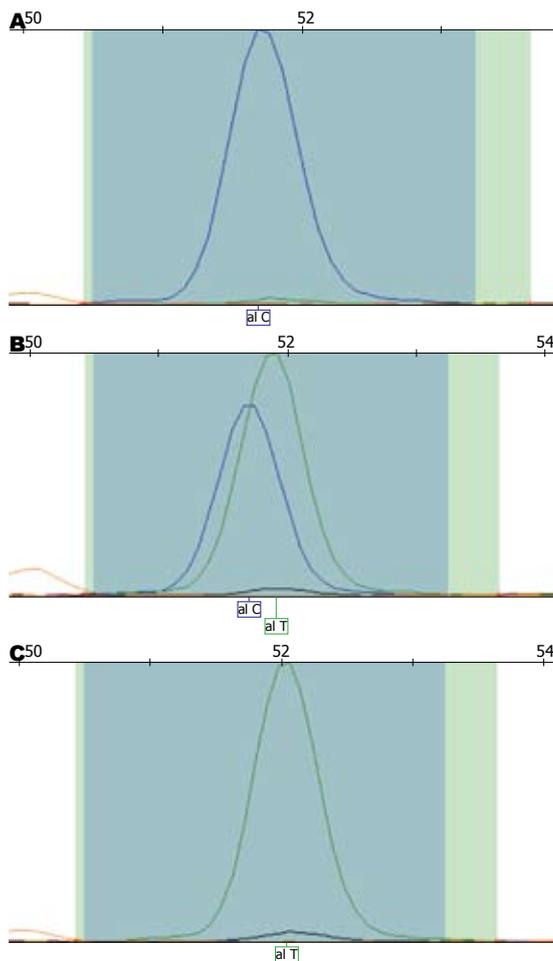


图 2 PARP-1Val762Ala多态位点. A: TT型; B: TC型; C: CC型.

型(野生型)携带者的4.2倍($OR = 4.200; 95\%CI: 1.430-12.338; P = 0.006$). 此OR值明显高于PARP-1940Lys/Arg基因型与PARP-1Lys/Lys基因型相比的OR值, 也高于PARP-1762Ala/Ala+Val/Ala基因型与Val/Val基因型相比的OR值. 这一结果表明: PARP-1940Lys/Arg基因型和PARP-1762Ala/Ala+Val/Ala基因型在胃癌的发病风险中存在着明显的加乘交互效应(表5).

3 讨论

胃癌发生的机制复杂, 目前研究认为他与遗传因素和环境因素有关, 这二者因素在胃癌的发生中相互作用, 相互影响. 仅有个体的遗传变异, 并不造成细胞的癌变, 而是需要适当的环境因素参与. 个体的遗传易感性是由于一些与肿瘤发生相关的基因存在多态性, 其遗传学基础是人类基因组DNA序列的变异性, 其中最常见的是单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)^[10]. SNP是指染色体基因组水平单个核苷酸变异引起的DNA序列多态性,

创新盘点
本研究对PARP-1 Val762Ala, Lys940Arg两个对PARP-1基因功能有重要影响的位点对PARP-1基因SNP与胃癌关系进行研究, 具有明显的创新性, 同时, 本研究采用国内很少应用的多重单碱基延伸SNP分型技术(multiplex SNaPshot), 准确性高, 方法新颖.

■应用要点

本文通过对PARP-1基因多态性与胃癌易感性的关系进行研究,揭示了我国甘肃省河西地区胃癌患者PARP-1基因多态性及胃癌发病风险,对胃癌防治具有一定意义。

表 2 PARP-1Val762Ala, Lys940Arg基因型在两组中的分布及其与胃癌的关系

	Val762Ala(%)				Lys940Arg(%)		
	TT	TC	CC	TC+CC	AA	GA	GG
正常对照组	88(57.9)	50(32.9)	14(9.2)	64(42.1)	140(92.1)	12(7.9)	0(0)
胃癌组	70(46.7)	67(44.7)	13(8.7)	80(53.3)	120(80.0)	30(20.0)	0(0)
OR	1.000	1.685	1.167	1.571	1.000	2.917	-
95%CI	-	1.040-2.729	0.515-2.644	0.997-2.476	-	1.430-5.947	-
P值		0.034	0.711	0.051		0.002	-

表 3 PARP-1Lys940Arg基因多态性与胃癌相关性的分层分析

分层	正常对照组 n		胃癌组 n		P值	OR	95%CI
	AA	GA+GG	AA	GA+GG			
<i>H.pylori</i> 感染							
阳性	60	8	78	24	0.055	2.308	0.969-5.498
阴性	80	4	42	6	0.106	2.875	0.764-10.686
吸烟							
不吸	78	8	81	9	0.876	1.083	0.398-2.950
吸	62	4	39	21	0.000	8.436	2.664-26.144
饮酒							
不饮	68	6	66	15	0.059	2.567	0.942-7.070
饮	72	6	54	15	0.015	3.333	1.214-9.155

表 4 PARP-1Val762Ala基因多态性与胃癌相关性的分层分析

分层	正常对照组 n		胃癌组 n		P值	OR	95%CI
	TT	TC+CC	TT	TC+CC			
<i>H.pylori</i> 感染							
阳性	43	25	43	59	0.007	2.360	1.256-4.433
阴性	45	39	27	21	0.314	1.447	0.704-2.973
吸烟							
不吸	37	29	27	33	0.215	1.559	0.772-3.151
吸	51	35	43	47	0.126	1.593	0.877-2.893
饮酒							
不饮	42	32	36	45	0.126	1.641	0.869-3.097
饮	46	32	34	35	0.239	1.480	0.770-2.843

在人群中发生率大于1%,是基因组变异最丰富的一种DNA序列变化形式。SNP是一种较好地反映个体遗传差异的分子标记,他能反映个体表型、疾病易感性和对药物、环境因子反应的差异。单核苷酸多态性与肿瘤易感性关系的研究只有充分考虑环境、生物、遗传、种族、地域等诸多因素,才能建立起与某一特定肿瘤易感性之间较为明确的关系,为肿瘤的预防和治疗提供依据。

在抑制基因变异,癌症发生过程中,DNA修复基因在保护维持基因组的完整性修复方

面发挥作用,PARP-1是一个能选择性识别并结合DNA缺口的DNA结合蛋白酶,参与因电离辐射和氧化损伤引起的碱基切除修复和单链断裂。Lockett等^[6]研究显示PARP-1Val762Ala的Ala/Ala基因型能增加前列腺癌的易感性,降低酶的活性。Cao等^[11]研究发现PARP-1基因变异与法国人群乳腺癌增高相关。研究发现,PARP-1的多态性与多种肿瘤易感性相关,在其高度保守的接触反应区存在的两个多态位点Val762Ala和Lys940Arg,与生殖细胞肿瘤易感性增高相关^[12]、与吸烟的交互作用可明显增高肺癌易

表 5 PARP-1 Val762Ala,Lys940Arg的交互作用分析

基因型		正常对照组	胃癌组	P值	OR	95%CI
Lys940Arg	Val762Ala					
Lys/Lys	Val/Val	81	54		1.000	
Lys/Lys	Val/Ala+Ala/Ala	59	66	0.039	1.678	0.026-2.744
Lys/Arg	Val/Val	7	16	0.008	3.429	1.323-8.888
Lys/Arg	Val/Ala+Ala/Ala	5	14	0.006	4.200	1.430-12.338

感性^[13]. PARP-1以NAD为底物可以催化多种蛋白的聚ADP核糖基化, 包括组蛋白、XRCC1、NF- κ B、P53及PARP-1自身^[14]. PARP-1通过其N末端的锌指DNA结合区及其中央的BRCT区与XRCC1发生作用, DNA损伤后, PARP-1被DNA缺口激活, 以XRCC1作为脚手架蛋白, 通过直接与聚合酶 β 、DNA连接酶III形成复合物, 合成并转运长链ADP核糖多聚体到DNA修复蛋白上, 参与因电离辐射和氧化损伤引起的碱基切除修复和单链断裂修复^[15]. 在肿瘤治疗尤其是恶性肿瘤治疗方面, 其策略是对肿瘤细胞的特异杀伤, 而对正常细胞DNA影响甚微的靶向治疗, PARP-1有望成为有效而特异的抗肿瘤靶分子之一^[16]. 利用siRNA干扰PARP-1, 从而改变PARP-1和聚ADP核糖水解酶[poly (ADP-ribose) glycohydrolase, PARG]的平衡, PARG活性相对增强因而聚腺苷酸二磷酸核糖(PAR)降解过多, 这种作用相当于PARP抑制剂^[17]. 研究发现PARP-1基因缺陷的小鼠对烷化物诱发的肿瘤的易感性增高^[12].

本研究发现携带PARP-1940Lys/Arg基因型的个体患胃癌的风险是Lys/Lys携带者的2.917倍($OR = 2.917$, 95%CI: 1.430-5.947, $P = 0.002$). PARP-1762Val/Ala基因型个体患胃癌的风险是Val/Val携带者的1.685倍($OR = 1.685$, 95%CI: 1.040-2.729, $P = 0.005$), 这一研究结果与先前Lockett等和Zhang等的报道基本一致. 通过数据分析, 我们认为PARP-1Lys940Arg, Val762Ala多态性与胃癌的发病风险相关. 而且通过分层分析, 发现在吸烟, 饮酒的人群中, 携带PARP-1940Lys/Arg基因型者与胃癌的发病风险存在着更强的关系, 在*H.pylori* IgG阳性的人群中, 携带PARP-1762Ala/Ala+Val/Ala基因型者与胃癌的发病风险存在着更强的关系. 这一结果证实了在胃癌的发生中, 基因-环境的交互作用是很重要的. 长期吸烟的个体, 发生糜烂性胃炎、萎缩性胃炎和溃疡等癌前病变的风险明显增大^[18]. 国外很多实验室研究成果认为吸烟是胃癌的危险

因素, 吸烟可能导致个体罹患胃癌的风险增加到1.62倍^[9], 最近的研究发现, 吸烟会减少胃黏膜合成前列腺素进而使胃黏膜微循环血管产生障碍, 导致胃上皮细胞损伤, 从而增加了胃癌发生的风险^[19]. 酒精与辛辣食物^[20,21]对胃黏膜的刺激相当大, 长期大量饮酒及进食辛辣食物, 会损伤胃黏膜, 使胃黏膜充血、水肿、甚至糜烂, 慢性胃炎发生率明显增高, 细菌繁殖增加, 促进了致癌物亚硝胺类的合成^[22]. 循证医学Meta分析的研究数据也表明饮酒高危人群患胃癌的归因危险百分比为50.74%, 而一般人群只为17.784%^[23]. 研究表明酒精在代谢过程中不但生成乙醛、乙酸、大量自由基等因素, 还会扰乱体内一碳单位的代谢、进而干扰DNA甲基化、影响核酸合成等生理活动, 可能是酒精导致胃癌危险增高的一个重要原因^[24]. *H.pylori*是胃癌的主要发病原因之一, 个体感染*H.pylori*后只有一部分发生胃炎、胃溃疡继而进一步发展成胃癌, 这可能与*H.pylori*携带不同致病因子有关^[25,26]. 大量研究提示患病风险增高的原因是由细菌的毒力因素(VacA和CagA等)^[27,28], 宿主的反应性(遗传易感性、肠上皮化生)和环境因素(饮食、获得感染的年龄)等多种因素相互作用的复杂结果. *H.pylori*通过其毒力因子会氧化损伤胃黏膜上皮细胞的DNA. *H.pylori*产生的毒力因子包括菌毛、鞭毛、尿素酶、细胞毒素、空泡细胞毒素等^[29], 临床根据*H.pylori*的Cag致病岛和VacA基因型将*H.pylori*分为高毒力株和低毒力株^[30]. 其中研究证明CagA基因是*H.pylori*高毒力株的标志基因, 与慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌的发生密切相关^[31,32]. CagA因子可以损害胃黏膜, 导致胃黏膜上皮细胞更新加速, 进而增加DNA损伤的机会, 从而引起细胞突变最终导致癌细胞的形成^[33]. *H.pylori*可能是慢性胃炎向胃黏膜不典型增生及胃癌发展的重要启动因子^[34], 感染后引起的炎细胞浸润及黏膜的损害与细胞因子的产生密切相关^[35,36].

在本实验中, 通过对PARP-1 Val762Ala,

同行评价

本研究从遗传角度对胃癌易感性进行研究, 资料详实, 内容丰富, 具有一定的理论意义和潜在的临床价值.

Lys940Arg的交互作用分析发现:同时携带PARP-1940Lys/Arg和PARP-1762Ala/Ala+Val/Ala基因型的个体患胃癌的发病风险是同时携带PARP-1940Lys/Lys和PARP-1762Val/Val基因型携带者4.2倍,这一结果表明:PARP-1940Lys/Arg基因型和PARP-1762Val/Val+Val/Ala基因型在胃癌的发病风险中存在着明显的加乘交互效应,这说明在胃癌的发生是基因多位点共同参与的结果。PARP-1的Val762Ala或Lys940Arg的基因变异可导致PARP-1酶活性下降,修复DNA损伤的能力降低,他们共存时则更加增高了个体对胃癌的发病风险。

由于涉及癌变过程的基因-基因、基因-环境因素相互作用关系错综复杂,本研究只能视为初步研究,而且本研究显示PARP-1Lys940Arg的C等位基因频率较低(在正常对照组,胃癌组分别为0.039, 0.100),有关结论有必要进一步扩大样本验证。

4 参考文献

- Brenner H, Rothenbacher D, Arndt V. Epidemiology of stomach cancer. *Methods Mol Biol* 2009; 472: 467-477
- Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 17-20
- 李玉民, 石斌, 柴琛, 李汛, 周文策, 刘虎, 米登海, 段国学, 王芳, 徐创贵, 张勇, 邓瑞, 郭进华, 张正坤, 傅汉中, 施耀仁, 梁聚民, 孙文勤, 薛群基, 刘维民. 甘肃省河西地区胃癌发病状况的调查. *中华普通外科杂志* 2004; 19: 183-184
- Tsutsumi M, Masutani M, Nozaki T, Kusuoka O, Tsujiuchi T, Nakagama H, Suzuki H, Konishi Y, Sugimura T. Increased susceptibility of poly(ADP-ribose) polymerase-1 knockout mice to nitrosamine carcinogenicity. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1-3
- Nguewa PA, Fuertes MA, Valladares B, Alonso C, Pérez JM. Poly(ADP-ribose) polymerases: homology, structural domains and functions. Novel therapeutical applications. *Prog Biophys Mol Biol* 2005; 88: 143-172
- Lockett KL, Hall MC, Xu J, Zheng SL, Berwick M, Chuang SC, Clark PE, Cramer SD, Lohman K, Hu JJ. The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function. *Cancer Res* 2004; 64: 6344-6348
- Yea SS, Yang YI, Jang WH, Lee YJ, Bae HS, Paik KH. Association between TNF-alpha promoter polymorphism and Helicobacter pylori cagA subtype infection. *J Clin Pathol* 2001; 54: 703-706
- 苏爱平, 许翠萍, 房晓芬, 王建春, 张太新. 幽门螺杆菌感染在慢性胃炎患者中的危险因素. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3810-3813
- Ladeiras-Lopes R, Pereira AK, Nogueira A, Pinheiro-Torres T, Pinto I, Santos-Pereira R, Lunet N. Smoking and gastric cancer: systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Cancer Causes Control* 2008; 19: 689-701
- Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004; 431: 931-945
- Cao WH, Wang X, Frappart L, Rigal D, Wang ZQ, Shen Y, Tong WM. Analysis of genetic variants of the poly(ADP-ribose) polymerase-1 gene in breast cancer in French patients. *Mutat Res* 2007; 632: 20-28
- Shiokawa M, Masutani M, Fujihara H, Ueki K, Nishikawa R, Sugimura T, Kubo H, Nakagama H. Genetic alteration of poly(ADP-ribose) polymerase-1 in human germ cell tumors. *Jpn J Clin Oncol* 2005; 35: 97-102
- Zhang X, Miao X, Liang G, Hao B, Wang Y, Tan W, Li Y, Guo Y, He F, Wei Q, Lin D. Polymorphisms in DNA base excision repair genes ADPRT and XRCC1 and risk of lung cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 722-726
- Yi SY, Lee WJ. A p53 genetic polymorphism of gastric cancer: difference between early gastric cancer and advanced gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6536-6539
- Zhang ZW, Newcomb P, Hollowood A, Moganaden, Gupta J, Feakins R, Storey A, Farthing MJ, Alderson D, Holly J. A comparison study of gastric cancer risk in patients with duodenal and gastric ulcer: roles of gastric mucosal histology and p53 codon 72 polymorphism. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 254-259
- 黄胜辉, 黄志勇. PARP-1: 一个肿瘤治疗的新靶点. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 841-847
- Haince JF, Rouleau M, Hendzel MJ, Masson JY, Poirier GG. Targeting poly(ADP-ribosylation): a promising approach in cancer therapy. *Trends Mol Med* 2005; 11: 456-463
- Shin VY, Cho CH. Nicotine and gastric cancer. *Alcohol* 2005; 35: 259-264
- Levi F, Lucchini F, La Vecchia C. Trends in cancer mortality in Switzerland, 1980-2001. *Eur J Cancer Prev* 2006; 15: 1-9
- Zickute J, Strumylaite L, Dregval L, Petrauskienė J, Dudzevicius J, Stratilaitovas E. [Vegetables and fruits and risk of stomach cancer] *Medicina (Kaunas)* 2005; 41: 733-740
- Liu C, Russell RM. Nutrition and gastric cancer risk: an update. *Nutr Rev* 2008; 66: 237-249
- Franke A, Teyssen S, Singer MV. Alcohol-related diseases of the esophagus and stomach. *Dig Dis* 2005; 23: 204-213
- 路常东, 张栓虎. 国内饮酒与胃癌关系的Meta分析. *新乡医学院学报* 2007; 24: 66-68
- Tanaka K, Kiyohara Y, Kubo M, Matsumoto T, Tanizaki Y, Okubo K, Ninomiya T, Oishi Y, Shikata K, Iida M. Secular trends in the incidence, mortality, and survival rate of gastric cancer in a general Japanese population: the Hisayama study. *Cancer Causes Control* 2005; 16: 573-578
- Romo-González C, Salama NR, Burgeño-Ferreira J, Ponce-Castañeda V, Lazcano-Ponce E, Camorlinga-Ponce M, Torres J. Differences in genome content among Helicobacter pylori isolates from patients with gastritis, duodenal ulcer, or gastric cancer reveal novel disease-associated genes. *Infect Immun* 2009; 77: 2201-2211
- Wen S, Moss SF. Helicobacter pylori virulence factors in gastric carcinogenesis. *Cancer Lett* 2009; 282: 1-8
- Wu CC, Chou PY, Hu CT, Liu ZC, Lin CY, Tseng YH, Lin NT. Clinical Relevance of the vacA, iceA, cagA, and flaA genes of Helicobacter pylori strains isolated in Eastern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43:

- 2913-2915
- 28 Yokoyama K, Higashi H, Ishikawa S, Fujii Y, Kondo S, Kato H, Azuma T, Wada A, Hirayama T, Aburatani H, Hatakeyama M. Functional antagonism between *Helicobacter pylori* CagA and vacuolating toxin VacA in control of the NFAT signaling pathway in gastric epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 9661-9666
- 29 黄德旺, 磨庆福, 蔡永林, 陈康部, 李军, 汤敏中, 成积儒, 谢宁. 血清幽门螺杆菌抗体谱与上消化道疾病相关性研究. *现代消化及介入诊疗* 2008; 13: 168-170
- 30 Atherton JC. The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 63-96
- 31 López-Vidal Y, Ponce-de-León S, Castillo-Rojas G, Barreto-Zúñiga R, Torre-Delgadillo A. High diversity of vacA and cagA *Helicobacter pylori* genotypes in patients with and without gastric cancer. *PLoS One* 2008; 3: e3849
- 32 Nguyen LT, Uchida T, Murakami K, Fujioka T, Moriyama M. *Helicobacter pylori* virulence and the diversity of gastric cancer in Asia. *J Med Microbiol* 2008; 57: 1445-1453
- 33 Ławniczak M, Starzyńska T. [*Helicobacter pylori* CagA(+) infection in gastric cancer patients] *Pol Merkur Lekarski* 2002; 13: 216-220
- 34 李琦, 范忠泽, 孙珏, 刘宁宁, 周利红, 吴琼, 王炎, 隋华, 高虹. 幽门螺杆菌对人胃癌MKN45细胞p38MAPK信号转导通路激活作用的研究. *中国癌症杂志* 2008; 18: 801-805
- 35 Malfertheiner P, Schultze V, Rosenkranz B, Kaufmann SH, Ulrichs T, Novicki D, Norelli F, Contorni M, Peppoloni S, Berti D, Tornese D, Ganju J, Palla E, Rappuoli R, Scharschmidt BF, Del Giudice G. Safety and immunogenicity of an intramuscular *Helicobacter pylori* vaccine in noninfected volunteers: a phase I study. *Gastroenterology* 2008; 135: 787-795
- 36 Lundin BS, Enarsson K, Kindlund B, Lundgren A, Johnsson E, Quiding-Järbrink M, Svennerholm AM. The local and systemic T-cell response to *Helicobacter pylori* in gastric cancer patients is characterised by production of interleukin-10. *Clin Immunol* 2007; 125: 205-213

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能V_{max}, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn. var. glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ(密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ(体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, Vd, T_{1/2} CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

非酒精性脂肪性肝病中医治疗研究进展

李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立, 鞠大宏, 赵宏艳, 刘梅洁, 姚树坤, 高春, 赵文霞, 车念聪, 季光, 张莉, 余轶群

编者按 研究发现, 非酒精性脂肪性肝病在普通人群中的发病率约为20%, 非酒精性脂肪性肝炎为2%-3%, 2型糖尿病和肥胖患者发病率高于此值. 近年来, 随着我国社会经济的发展, 人们生活习惯和饮食结构的改变以及B超等影像检查的普及, 非酒精性脂肪性肝病的发病率及检出率逐年增加, 已经严重威胁着我国人民的身体健康. 20世纪90年代开始, 非酒精性脂肪性肝病已成为发达国家和地区最常见的肝脏疾病之一, 成为健康体检者血清转氨酶异常的首要原因, 其重要性得到广泛重视. 非酒精性脂肪性肝病的中医药研究也逐渐兴起, 尤其是近年来, 中医药对非酒精性脂肪性肝病的研究进一步深化, 取得了一些新进展, 但还存在许多问题, 需要进一步研究及探讨.

本编辑部特邀请北京中医药大学东方医院消化科李军祥教授组织本期焦点论坛, 对非酒精性脂肪性肝病中医药基础与临床研究进行全面探讨.

1	中医药治疗非酒精性脂肪性肝病研究述评.....	1443
2	非酒精性脂肪性肝病病证结合动物模型的研究进展.....	1452
3	酒精性肝病与非酒精性脂肪性肝病的鉴别诊断.....	1456
4	如何改善非酒精性脂肪性肝炎患者的肝功能.....	1461
5	病毒性肝炎伴发脂肪肝的中医药治疗.....	1465
6	重视非酒精性脂肪性肝病胰岛素抵抗的防治.....	1469
7	非酒精性脂肪性肝病的疗效评价.....	1474

中医药治疗非酒精性脂肪性肝病研究述评

李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立

李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立, 北京中医药大学东方医院消化内科 北京市 100078
国家“十一五”科技支撑计划基金资助项目, No. 2007BAI20B096
通讯作者: 李军祥, 教授, 100078, 北京市, 北京中医药大学东方医院消化内科, lijx970508@sohu.com
电话: 0411-83600680 传真: 0411-83631284
收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-03-30
接受日期: 2010-04-20 在线出版日期: 2010-05-18

Advances in management of nonalcoholic fatty liver disease by Chinese medicine

Jun-Xiang Li, Run-Hua Chen, Dong-Mei Su, Li Li

Jun-Xiang Li, Run-Hua Chen, Dong-Mei Su, Li Li, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China
Supported by: the National Key Technology R&D Program during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2007BAI20B096
Correspondence to: Professor Jun-Xiang Li, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China. lijx970508@sohu.com
Received: 2009-12-31 Revised: 2010-03-30
Accepted: 2010-04-20 Published online: 2010-05-18

Abstract

As some patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) have no obvious clinical symptoms, we propose that NAFLD should be named “Ganpi” in Chinese medicine (CM) since it better reflects the pathogenesis of the disease. Although it is believed that the development of NAFLD is related to improper diet, irregular lifestyle habits and emotional disturbance, there is no thorough research on the differences among the syndromes resulting from these causes. The accumulation of phlegm and blood stasis in the liver collateral is the common pathogenesis of various types of NAFLD. At present, there are insufficient data concerning detailed pathological changes in different stages of NAFLD. The therapies for NAFLD include: treatment based on syndrome differentiation, specific recipes and drugs, and treatment based on the combination of disease differentiation and syndrome differentiation. However, the efficacy

evaluation system is not rigorous and effective, and little importance is attached to the quality of life of NAFLD patients. Most experimental studies concentrate on syndrome and therapeutic mechanism of a single herb, and few studies focus on the safety of herbs and the mechanism of compound prescriptions.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Etiology and pathogenesis; Clinical research; Experimental research; Review

Li JX, Chen RH, Su DM, Li L. Advances in management of nonalcoholic fatty liver disease by Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1443-1451

摘要

部分患者无明显临床症状, 故当从病机出发探讨非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的中医病名, 如“肝癖”。NAFLD的发病与饮食、劳逸及精神因素等有关, 但目前对不同病因之间的区别缺乏深入研究。痰瘀互结、痹阻肝络是NAFLD的病机共性, 但不同阶段之间的具体病机存在差异, 目前对此研究不足。NAFLD的治疗有辨证论治、专法专药, 以及辨病辨证相结合等, 但均缺乏严谨有效的评价体系, 对患者生存质量也不够重视。实验研究集中体现在证候及单味药物治疗机制的研究上, 但存在造模方式未体现中医特色, 以及中药安全性和中药复方机制研究不足的问题。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 病因病机; 临床研究; 实验研究; 述评

李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立. 中医药治疗非酒精性脂肪性肝病研究述评. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1443-1451
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1443.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的, 病变主体在肝小叶的, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变性和脂肪贮积为病理特征

■背景资料

近年来, 学者对中医药治疗NAFLD进行了一系列研究, 取得较多的成绩, 但同时也暴露了一些问题。为了进一步的深入研究, 有必要对现有的研究成果加以总结, 并指陈得失。

■同行评议者

王凯, 教授, 山东大学齐鲁医院肝病科

■ 研发前沿

目前, NAFLD中医药研究所面临的重要问题, 以及亟待解决的问题主要有两个: 其一, 对现有治疗方案的确切疗效进行系统评价; 其二, 规范完善实验研究, 为进一步筛选有效方药打好基础。

的临床病理综合征, 包括非酒精性单纯性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和非酒精性脂肪性肝硬化(non-alcoholic cirrhosis)三种主要类型^[1]。研究发现, NAFLD在普通人群中的发病率约为20%, NASH为2%-3%, 2型糖尿病和肥胖患者发病率高于此值^[2]。近年来, 随着我国社会经济的发展, 人们生活习惯和饮食结构的改变以及B超等影像检查的普及, NAFLD的发病率及检出率逐年增加, 已经严重威胁着我国人民的身体健康。20世纪90年代开始, NAFLD已成为发达国家和地区最常见的肝脏疾病之一, 成为健康体检者血清转氨酶异常的首要原因^[1,3], 其重要性得到广泛重视。NAFLD的中医药研究也逐渐兴起, 尤其是近年来, 中医药对NAFLD的研究进一步深化, 取得了一些新进展, 但还存在许多问题, 需要进一步研究及探讨。现对中医药治疗NAFLD研究进展作一评述。

1 病名探讨

NAFLD是现代医学中的一种病理学概念, 在传统中医学中目前尚无统一规范的病名。从文献报道来看, 诸医家或从症状命名, 或从病因病机命名, 将其归属于“胁痛”、“痞满”、“肝胀”、“肝痞”、“肝癖”、“肝着”、“积聚”、“痰证”、“痰浊”、“湿阻”“瘀证”、“肥气”、“积证”等范畴。我们认为, NAFLD临床表现有轻有重, 部分患者没有明显的临床症状, 因此不宜以症状进行命名, 而应从病因病机角度进行命名。虽然NAFLD呈慢性过程, 在不同时期, 其病因病机有一定差别, 但痰瘀痹阻肝络的病因病机贯彻始终, 故我们认为以“肝癖”作为本病的病名, 基本概括了其病位、病机特点。

2 发病机制

现代医家对于NAFLD的病因病机的认识, 大多根据自己的临床经验, 提出了各自的观点。就病因而言, 袁洋等^[4]通过对112例NAFLD患者的分析, 认为NAFLD的发病与饮食、劳逸、精神、他病失治转变、手术创伤等因素相关; 张冀萃等^[5]认为NAFLD的病因为过食肥甘厚味、情志失调以及久病体虚; 石拓等^[6]总结梅国强教授的经验, 认为NAFLD的发病与饮食失节、情志不畅、好逸恶劳、脾胃本虚以及感受湿热之邪等有关; 王微等^[7]认为NAFLD的发病外责之于

嗜食肥甘, 内则责之于脾失健运。许兵华等^[8]认为除与饮食不节、起居无常等因素有关之外, NAFLD的发病还与体质因素有关; 朱小区等^[9]也认为NAFLD的发病与先天禀赋相关。

从上述可知, 虽然诸医家对NAFLD的病因认识有所不同, 但均认为饮食、劳逸、精神以及他病失治等因素与NAFLD的发病相关。这与许雪荷等^[10]系统总结了近10年来关于中医药治疗NAFLD的文献后所得出的结论基本一致。此外, 虽然有医家提出了脏腑虚损是NAFLD发病的因素, 但相较之下, 诸医家更注重饮食、劳逸、精神等因素。孟萍等^[11]等通过对抚州市2 000名居民体质情况的调查, 发现NAFLD患者中, 痰湿体质所占的比例最高。这正说明了饮食因素所导致的痰湿内生是NAFLD发病的主要因素。任何事物的发生发展都是诸多因素共同作用的结果, 但对于不同个体而言, 每一因素所起作用是不同的。因此, 我们认为对于不同人群而言, 各病因所起作用的程度不一。对年青人而言, 以饮食、劳逸以及精神等因素为主, 部分幼年及青少年患者则应考虑先天禀赋的因素; 而对于中老年患者, 尤其是老年患者, 则更多考虑内因的主导性, 尤其是随年龄增长而出现, 脾肾亏虚, 而导致肝脾肾功能失调。

就病机而言, 多数医家认为NAFLD为本虚标实之病, 病位在肝, 与肝、脾、肾等密切相关, 其病机为脾肾亏虚, 肝失疏泄、脾失健运、湿热内蕴、痰浊郁结、气滞血瘀、痰瘀互结, 而最终形成湿、痰、瘀、热互结, 痹阻肝络而发为NAFLD。但不同医家对NAFLD病机认识的侧重点不同, 或侧重于本虚, 或侧重于邪实。就侧重本虚而言, 如朱小区等^[9]强调脾肾阳虚; 金钊等^[12]也认为NAFLD的发病与元气的盛衰密切相关, 元气虚衰, 脏腑功能衰弱, 病理产物随之而生, 痰、瘀、食、脂、气聚积体内, 而元气又与脾肾密切相关; 苏经格^[13]则认为NAFLD普遍存在脾虚; 而付静等^[14]、刘敏等^[15]则指出了NAFLD存在肝肾阴虚的病机。就侧重邪实而言, 杨晋原等^[16]、刘洪波等^[17]强调肝郁的普遍性; 闫智勇^[18]亦强调肝郁的重要性, 并从肝主疏泄对脾胃功能的影响, 阐述了肝失疏泄对脂质代谢输布的影响; 而张冀萃等^[5]强调痰瘀互结; 陈丽华等^[19]强调气滞、瘀、痰、湿、食等; 曾映荷等^[20]强调气滞湿阻; 王京齐等^[21]、凌曼芝^[22]强调痰湿凝滞、血瘀阻络; 党中勤等^[23]强调痰瘀膏浊沉积于肝。黄静娟等^[24]、车念聪^[25]即指出

痰瘀热结是NAFLD病机的关键, 并分别阐述了肝、脾、肾三脏功能失调, 导致痰瘀热结的机制. 更多的医家则认为NAFLD的病机复杂多样, 涉及多脏腑, 且虚实夹杂, 寒热错杂.

虽然诸医家对NAFLD的病机认识各不相同, 但对痰瘀互结, 痹阻肝络发病机制的认识是相同的. 我们认为作为一个病, NAFLD是有其共性的. 即NAFLD为脂肪在肝脏的异常堆积, 而脂肪属痰湿之邪, 因此, 痰湿为患是NAFLD的病机共性. 肝脏的脂肪性病变为有形病变, 故瘀血也是NAFLD的病机共性. 其中, 痰湿属气分, 瘀血属血分, 从气病及血来推断, 当为先痰后瘀. 虽然痰湿的产生与多种因素相关, 但脾虚不运是关键环节, 尤其是NAFLD多见于肥胖、高血脂、糖尿患者群, 从临床来看, 通过健脾及饮食调节可以治疗NAFLD, 也反证了NAFLD脾虚的普遍存在. 因此, 就脏腑虚损而言, 脾虚是NAFLD的病机共性. 至于其他脏腑的虚损, 虽然具有一定的趋向, 但均属个体差异, 是NAFLD的特性病机.

3 临床研究

西医治疗NAFLD主要针对病因及相关因素治疗, 效果不甚满意, 而中医药在治疗NAFLD上具有很大的优势. 从文献报道来看, 中医药对NAFLD的治疗主要有以下几种情况.

3.1 辨证论治 即根据患者临床表现, 四诊合参, 断识病因病机, 进而处方用药. 如曹建春^[26]分3型进行论治: 痰浊中阻型, 治以燥湿化痰祛浊, 方用二陈汤合三子养亲汤加减; 脾气虚弱型, 治以益气健脾化痰, 方用参苓白术散加减; 气滞血瘀型, 治以理气活血、化痰通络, 方用血府逐瘀汤加减. 治疗脂肪肝60例, 显效38例, 有效18例, 无效4例, 总有效率93.3%. 刘敏等^[15]将NAFLD分为痰湿阻滞、肝郁脾虚、瘀血阻络、肝肾阴亏4型, 分别采用理气化痰、祛湿泄浊, 疏肝健脾、理气活血, 活血化瘀、祛痰散结, 养肝益肾、补益精血等不同治法. 罗军^[27]则分5型: 脾虚痰湿型, 治以健脾化湿, 方药以参苓白术散或二陈平胃散加减; 肝郁气滞型, 治以疏肝理气, 方药以柴胡疏肝散加减; 湿热蕴结型, 治以清热化湿, 方药以龙胆泻肝汤加减; 瘀血阻络型, 治以活血化瘀通络, 方药以旋覆花汤或复元活血汤加减; 肝肾亏虚型, 治以补益肝肾, 方药以六味地黄丸加减. 刘氏还指出, 脾虚痰湿者脂质沉积较轻, 而痰瘀互结型则较重. 孟萍等^[28]等通过对2 000

例普通人群的调查, 发现NAFLD患者具有8种体质, 其中以痰湿质、湿热质、气虚质和瘀血质为多, 并在此基础上提出了NAFLD患者不同体质的调养方案.

3.2 辨病辨证相结合 即针对病机共性制定辨病方, 再与辨证论治相结合, 根据患者临床表现加减变化. 如刘文全等^[29]认为气滞、痰郁、血瘀是NAFLD的主要病理变化, 并从病程发展的角度, 将本病分为肝气郁滞、痰湿内盛、痰瘀互结3型, 治疗上采用辨病方(丹参、决明子、生山楂、泽泻、桃仁)与辨证论治相结合(肝气郁滞加柴胡、郁金、枳壳、白芍、当归、香附; 痰湿内盛加法半夏、苍术、陈皮、厚朴、车前子、生甘草; 痰瘀互结加海藻、泽兰、莪术、王不留行). 再如杨钦河等^[30]将NAFLD分为早、中、晚3期, 每期有不同的病机特点, 早期以疏肝健脾为主加减治疗, 中期以清热祛湿化痰为主加减变化, 晚期则用化痰散结、活血通络之法化裁. 又如盛国光等^[31]认为NAFLD早期与后期的病机特点不同, 在早期, 应疏肝健脾、活血化瘀、化痰利湿, 再依临床表现不同而加减变化; 后期则以化痰消痰、清热利湿、补益肝肾为主, 再依照兼证不同加减化裁. 另外, 陈俊英^[32]认为痰瘀热结是NAFLD发病的关键, 而且相关检查如血脂升高, 血液黏稠度增高, 血流缓慢, 肝内近场回声增强, 远场回声衰减, 肝内管状结构模糊等, 都与中医的“痰证”、“瘀证”极为相似, 因此采用活血化瘀方(陈皮、法夏、茯苓、丹参、山楂、郁金、赤芍、全蝎、泽泻、决明子)加减治疗NAFLD, 脾气虚者加党参、北黄芪; 肝郁气滞者加柴胡、枳壳; 肝肾阴虚者加首乌、女贞子. 赵汉林等^[33]认为NAFLD的病机为肝失疏泄、脾失健运, 导致湿热内蕴、痰浊郁结, 久则瘀血阻滞, 于是气、血、痰、瘀相互搏结而为积, 所以运用具有益气健脾、养血活血作用的活血降脂汤(枸杞子、山楂、丹参、炒白术、生黄芪、半夏、当归)为主治疗NAFLD, 视患者临证表现不同, 给予相应加减, 湿热痰浊加茵陈、荷叶、胆南星; 气滞血瘀加桃仁、红花、赤芍、郁金; 肝肾阴虚加女贞子、旱莲草、淮山药、制首乌. 张卫星等^[34]认为2型糖尿病性非酒精性脂肪及肝多因肝肾不足, 痰瘀内阻, 气机不畅所致, 因此以延寿丹(制首乌、决明子、女贞子、墨旱莲、怀牛膝、桑椹、忍冬藤、炒山楂、泽泻、丹参、炒杜仲、菟丝子、桑枝)加减治疗, 大便干结难解者加生大黄(后

■ 相关报道

孟萍等通过居民体质情况的调查, 阐明了NAFLD发病与患者体质的关系. 再如杨钦河对NAFLD早、中、晚3期的病机特点及治疗方药等进行了论述, 并附有相关的实验研究, 揭示了NAFLD不同阶段的特点.

■创新盘点

本文在系统回顾文献报道的基础上,对研究工作中所存在的问题以及研究方法上的缺陷进行总结,并尽量提供了相应的解决方案,如从病机角度研究相关病名;分年龄段研究病因病机;临床治疗中要注意疗效评价等。

下);夹痰湿,苔见白腻者加用炒苍术、陈皮;兼肝区刺痛、舌见瘀斑者加制大黄、郁金;阴虚明显,口干咽干、舌红少苔者加白芍、石斛;内热偏盛,苔黄厚者加黄连、焦山栀;确诊为脂肪性肝炎者加用垂盆草、虎杖。

3.3 以专法专方进行治疗 即依据医家自身的学识及对NAFLD的认识,确定治法,再制定专方进行治疗.专法专方可分为基础方加减和专方治疗.专方治疗又有单一法和多法并用的区别。

3.3.1 基础方加减:如王京齐等^[21]以四生降脂方(生黄芪、山楂、草决明、荷叶、薏苡仁、焦神曲、丹参)为基本方,肝郁加柴胡、枳壳、郁金;湿热偏重者加黄芩、车前子、川木通;血瘀偏重加桃仁、红花、当归,治疗NAFLD 64例,并与辛伐他汀对照,结果显示治疗组肝功能酶学变化以及血脂水平均优于对照组.陈丽华等^[19]以肝脂康(姜黄、生首乌、枸杞子、山楂、泽泻、决明子、生蒲黄)为基本方,腹胀不适加枳实、佛手;便秘加熟大黄;右胁胀闷加柴胡、枳壳;神疲乏力加党参、茯苓;转氨酶升高加五味子;黄疸加田姜黄,治疗NAFLD 45例,有效率达93.3%.再如浦忠平等^[35]以加味温胆汤(法半夏、枳实、泽泻、茯苓、陈皮、山楂、大腹皮、竹茹、神曲、丹参、甘草)加减治疗脾虚湿阻,痰瘀热结型NAFLD,乏力加黄芪、白术;肝区胀痛加川楝子、延胡索;腹胀加厚朴、香附.治疗有效率为86.79%,ALT、AST、TC、TG均有明显改善.杜慧芳^[36]以调脂疏肝汤(山楂、半夏、泽泻、柴胡、枳壳、黄芪、茯苓、白术、赤芍、丹参、制首乌、菟丝子、枸杞子)为基本方进行加减,腹胀甚者,加莱菔子;大便秘结者,加生大黄、决明子;肝肾阴虚明显者,去黄芪,加白芍;肝阳上亢明显者,去黄芪,加决明子、钩藤、天麻;脾肾阳虚明显者,加党参、仙灵脾.刘中文^[37]以降脂护肝汤(山楂、鸡内金、柴胡、郁金、茵陈蒿、茯苓、白术、丹参、赤芍、制大黄)加减治疗NAFLD,脾虚倦怠者加生黄芪、党参;右上腹胀满、隐痛不适者加延胡索、白芍、甘草;胁痛甚者加川楝子;腹泻者加薏苡仁.谢体学^[38]以降脂舒肝汤(田基黄、垂盆草、苍术、泽泻、草决明、三七粉、荷叶、三棱、莪术、佛手、地龙、丹参、赤芍、黄芪、当归)加减治疗NAFLD,腹胀者加木香、白蔻仁、木瓜;胁痛者加玄胡、川楝子、鸡血藤。

3.3.2 单一法: (1)疏肝健脾:韩素萍等^[39]用舒肝健脾化痰颗粒(柴胡、枳壳、泽泻、山楂、

黄芪、草决明、赤芍、郁金、丹参、姜黄等)治疗NASH患者70例,总有效率88.6%,在症状、肝功能、血脂及B超改善等方面均有显著效果.朱初良等^[40]采用疏肝健脾活血法治疗50例脂肪肝,主药为:柴胡12 g,枳壳10 g,白芍15 g,白术15 g,茯苓15 g,赤芍15 g,山楂20 g,郁金15 g,泽泻15 g,三七粉(冲服)2 g,薏苡仁30 g,党参15 g,昆布15 g.结果发现此法有明显的保肝和降血脂的作用,总有效率为88%. (2)清热化湿:陈利群^[41]应用丹栀逍遥散加减(丹皮、柴胡各9 g,山栀7 g,炙甘草5 g,白术、当归、白芍、泽泻、郁金各10 g,茯苓、决明子各15 g)治疗湿热内蕴型NAFLD 60例,结果在改善肝功、血脂、体质量指数(BMI)、腰围/臀围(WHR)、ISI及血压方面有显著疗效.蔡虹^[42]用清热利湿健脾化痰法(茵陈30 g,黄芩15 g,虎杖15 g,郁金15 g,苍术10 g,泽兰、泽泻各15 g,姜黄15 g,桃仁、杏仁各15 g,薏苡仁30 g,丹参15 g)治疗肥胖型脂肪肝18例,总有效率达96.7%. (3)化痰祛瘀:陶琳等^[43]自拟疏肝化浊活血方(柴胡10 g,白芍药10 g,枳壳10 g,炒白术10 g,茯苓10 g,香附10 g,泽兰10 g,泽泻10 g,郁金10 g,丹参15 g,山楂10 g)加减治疗NAFLD 30例,总有效率达87.5%.陈利群等^[44]以逍遥散合当归芍药散(柴胡9 g,当归10 g,白芍10 g,生白术10 g,茯苓15 g,川芎6 g,赤芍10 g,泽泻10 g,炙甘草6 g)治疗痰瘀互阻型NAFLD 60例,总有效率达88.33%,在B超、肝功及血脂方面也有显著疗效. (4)益气活血:刘燕^[45]用扶正通络胶囊(含黄芪、何首乌、川芎、地龙、生山楂、丹参、赤芍)治疗非酒精性脂肪肝38例,结果发现扶正通络胶囊可显著降低患者伴随的高脂血症及异常的肝功能,可提高肝脏B超的复常率,临床疗效总有效率达89.4%.王兵等^[46]用舒肝活血化痰方(柴胡、茯苓、郁金、茵陈、泽泻、半夏、姜黄、参三七、赤芍药、生山楂等)治以疏肝健脾、化痰活血软坚,治疗NASH 56例,结果显效40例,有效10例,总有效率为89.3%. (5)补益肝肾:卑其新^[47]用益肾调脂护肝汤(桑寄生、制首乌、泽泻、丹参各15 g,生山楂30 g,枸杞子、僵蚕、醋柴胡、郁金各10 g)加减,以补益肝肾之阴,活血化瘀、利水祛浊、舒畅气机之法,达到调节脂代谢的目的,治疗脂肪肝46例,总有效率达93.48%.祁颖欣等^[48]用益肾法(当归12 g,女贞子6 g,五味子9 g,熟附子6 g,车前子6 g,续断9 g,茯神12 g,龟板15 g,谷精9 g,龙骨9 g,幼鹿茸9 g,西洋参12 g,苁蓉9 g,大蛤蚧1对,熟地9 g,淮

牛膝15 g, 龙眼肉9 g, 淮山9 g, 党参15 g, 川巴戟12 g, 红枣30 g, 大海马1对, 黄精15 g, 远志6 g, 锁阳12 g, 炙芪12 g, 覆盆子15 g, 枸杞子15 g, 山楂15 g)治疗脂肪肝60例. 结果发现血脂、肝功、超声显像比治疗前显著改善, 总有效率为60%.

3.3.3 多法并用: 由于NAFLD病机复杂, 往往肝郁、脾虚、痰瘀、肾亏等多种病机并存, 因此多数医家主张治疗NAFLD应多法并用, 标本兼顾. 但在具体治疗时, 依病机认识不同, 其侧重有所不同. (1)疏肝健脾、化痰祛瘀: 冯宇等^[49]等运用疏肝健脾、活血化痰的肝脂消, 治疗NAFLD 30例, 临床主要症状缓解率达92.6%-96.3%, 并且血清总胆固醇、甘油三酯均下降, 各项治疗指标明显优于对照组. 闫镛等^[50]使用散瘀化浊汤治疗NAFLD, 临床症状、体征改善, 以及影像学 and 血脂改善均优于对照组($P<0.05-0.01$). (2)疏肝健脾、清热利湿: 吴厚琼^[51]所使用的益有降脂汤, 具有疏肝健脾, 清利湿热的作用, 治疗脾虚湿盛及湿热内蕴型NAFLD患者, 可保护肝细胞, 增强肝脏代谢功能, 加速肝内脂质的转输, 提高肝细胞对脂质的清除能力, 又能降低血脂, 促进脂质的排泄, 减少脂质的吸收. (3)疏肝健脾, 祛湿化痰: 胡苏妹^[52]以疏肝健脾化痰为主, 兼用清热, 治疗NAFLD 40例, 治愈15例, 显效20例, 有效3例, 无效2例, 总有效率为95.00%, 明显优于对照组. 邓达荣^[53]采用自拟疏肝健脾化痰方药治疗NAFLD, 并设立对照组, 结果显示治疗组无论是临床症状、体征, 还是血脂水平、肝功能及B超结果均明显优于对照组. (4)健脾益肾、活血化痰: 吴其恺等^[54]通过随机对照分组观察, 治疗组使用脂炎消煎剂后, 其总有效率、降转氨酶及降血脂作用均优于对照组. 李海军等^[55]使用健脾补肾中药治疗NAFLD具有减轻临床症状、改善肝功能、降低血脂等疗效. (5)清热化痰, 疏肝解郁: 赵晓琴等^[56]使用排毒降脂胶囊治疗NAFLD 69例, 其有效率达88.4%, 并在降低血脂、改善肝功能方面均优于对照组($P<0.01$). 史宏江等^[57]采用祛脂调肝饮治疗非酒精性脂肪肝42例, 并以脂必妥作为对照组. 结果显示, 治疗组疗效优于对照组. 刘洪波等^[10]使用脂平汤治疗NAFLD 98例, 结果显示脂平汤可明显降低血脂, 且可提高肝脏B超复常率. (6)清泻肝热, 活血化痰. 如李英等^[58]运用清肝化痰活血方药治疗NAFLD, 可明显减轻患者临床症状、体征, 而且可以改善NASH患者肝脏影像学变化, 降低血清TG、TC的含量, 改善和恢复肝功能.

从相关文献报道来看, 由于对NAFLD病因病机认识不同, 以及医家自身的经验、学识等不同, 对NAFLD的治疗呈多样化. 这虽然极大地丰富了NAFLD的治疗经验, 但部分医家的治疗方案趋于大而全, 尤其是运用专法专方治疗者. 这导致了对NAFLD的认识变得混乱, 不利于NAFLD的进一步细化研究. 这种治疗的随意性必然导致诸医家观点的分歧, 缺乏规范, 不利于协作攻关. 针对以上现状, 我们认为, 可采用辨病辨证相结合的思路对NAFLD进行研究. 以辨病(即辨病机共性)为基础, 汇总、分析、参考医家运用专法专方的治疗经验, 对比分析, 创制有效的针对性方药. 如本病的病机共性为脾虚及痰瘀互结, 可制定健脾、化痰、活血方药. 再参考辨证, 进行相应的加减变化. 如本病常见气滞、郁热等病机特性, 分别治以理气、清热等. 有学者许雪荷等^[10]总结分析了近10年来运用中医药治疗NAFLD的文献后, 发现在辨病治疗中, 使用频率最高的药物有柴胡、丹参、茵陈、山楂、泽泻、郁金、何首乌等. 许氏的研究为进一步筛选有效的针对性方药提供了有益的借鉴, 但尚不能完全反应临床实际情况. 我们在研究NAFLD的证候规律研究中发现, 单纯的辨证论治无法揭示NAFLD的证候规律, 而采用辨证与辨病相结合, 可有效解决研究过程中所存在的问题.

3.4 中成药 由于中成药携带服用方便, 符合现代人的生活方式和节奏, 而且疗效显著, 临床应用广泛. 常用的中成药有水飞蓟素胶囊、当飞利肝宁胶囊、血脂康、消脂护肝胶囊等. 黄欣等^[59]用当飞利肝宁胶囊治疗NASH 42例, 并益肝灵片对照组, 疗程均为12 wk. 结果显示两组患者治疗前后血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)及天冬氨酸氨基转移酶(AST)水平差异有显著性意义($P<0.01$). 治疗组患者治疗前后血清总胆固醇(TC)及甘油三酯(TG)差异有显著性意义($P<0.01$), 对照组TC及TG的改变不显著($P>0.05$). 治疗组可显著改善肝脏影像学变化($P<0.05$). 证明当飞利肝宁胶囊可改善NASH 患者的临床症状, 且治疗疗效显著. 邓银泉等^[60]用水飞蓟素胶囊治疗NASH 64例, 对照组用易善复胶囊, 疗程均为3 mo, 结果显示, 水飞蓟素胶囊能改善患者的临床症状、恢复肝功能、降低血脂、对抗脂质过氧化状态, 从而减轻或阻止NASH进展. 张分明^[61]用血脂康治疗伴有高脂血症的NASH患者35例, 结果显示, 血脂康能够显著改善血脂异

■应用要点

文章在分析总结现有成果的基础上, 重点指出了目前研究中所存在的问题, 并尽量提供了解决方法, 指明了下一步研究的方向.

■名词解释

PRO: 即“患者报告的临床结局(PRO)”,是一种直接来自于患者(即没有医生或其他任何人对于患者反应的解释)的对于患者健康状况的各个方面的测量。

常,增加胰岛素敏感性,逆转肝脏脂肪化进展,且无明显不良反应.安全、有效.赵文霞等^[62]在对消脂护肝胶囊的临床及实验研究中发现,消脂护肝胶囊不仅可以改善NASH患者右肋不适、乏力、腹胀、纳呆、厌油腻等临床症状,而且可以减轻体质量,改善患者的肝功能、血脂等各项生化指标.

3.5 针灸治疗 中医药治疗疾病方法、手段多样,很多研究人员运用针灸治疗NAFLD亦取得了满意的疗效.王骏等^[63]将30例肥胖性脂肪肝患者采用电针(滑肉门、天枢、外陵、水道、大横、足三里、上巨虚、丰隆、三阴交)配合耳穴(脾、胃、肝、交感、内分泌、三焦、饥点、大肠、便秘点)治疗,观察临床疗效、体质量指数、腰臀比、肝功能、血脂变化,总有效率为86.7%.周丽等^[64]观察NASH患者108例,电针组(60例)取穴足三里、丰隆,电针治疗,留针10 min,每天治疗1次,连续6 d后休息1 d.西药对照组(48例)每天给予西药阿托伐他汀片及肝泰乐片口服,观察8 wk后,发现两组临床治愈率及总有效率比较差异有显著差异($P<0.01$, $P<0.05$),电针在使ALT、GGT恢复正常,降低TC、TG及肝纤维化指标血清III型前胶原蛋白(PCIII)、层粘连蛋白(LN)、透明质酸(HA)和IV型胶原(CIV)方面与治疗前相比差异非常显著($P<0.05$ 或 0.01),与西药对照组比较差异非常显著($P<0.01$).电针具有明显的改善NASH患者的临床症状、改善肝功能、降低血脂及抗肝纤维化的作用.再如梁学琳等^[65]以多烯磷脂酰胆碱胶囊、水飞蓟宾葡甲胺片治疗NAFLD,治疗组再给予中药结肠透析(苍术、藿香、佩兰、制半夏、香附、枳壳、牡蛎、丹参、山楂、生大黄).结果显示,治疗组的临床疗效及B超改变明显优于对照组.又如杨露梅等^[66]采用HD肝病治疗仪结合中药导入,并配合饮食运动疗法治疗NAFLD,治疗仪取穴为:肝区疼痛选期门、日月、章门、肝俞;ALT升高选足三里,药物选用补脾益肾、活血化痰之品.夏棣其等^[67]认为电针丰隆及足三里具有保护肝细胞、减轻炎症反应、改善肝功能等作用.

4 实验研究

4.1 单味中草药 研究发现,最常用的中药多具有活血化瘀、祛湿化痰、疏肝解郁、导滞通便、健脾养肝等作用,且大多数药物归肝、胆、脾、胃、大肠经,如山楂、丹参、泽泻、柴胡、决明子、首乌、郁金、茯苓等等.很多学

者对单味药防治本病的作用进行了实验研究.

孙朝霞等^[68]研究丹参注射液对高脂饮食大鼠脂肪性肝炎的影响,结果发现,丹参组血清TG下降,肝脂肪变程度有所减轻,肝内炎症、坏死程度明显改善.江庆澜等^[69]发现虎杖水提液能够调整和改善NAFLD大鼠的脂肪和糖代谢.李晶等^[70]用析因设计方法,对生山楂、泽泻、莪术进行多因素、多水平及交互作用的研究,探讨其对脂肪肝模型大鼠药效学作用,实验结果显示:生山楂、莪术、泽泻单味药有明显的降酶、抗脂肪肝作用.莪术和泽泻、生山楂和泽泻、生山楂和莪术合用抗脂肪肝有协同作用.莪术和泽泻合用降肝酶有协同作用,三药合用保肝效果最佳.戴兆云等^[71]用自制山豆根醋浸液治疗NASH患者20例,结果提示山豆根醋浸液在降低ALT、AST及降低TG方面,有一定的初步疗效.山豆根化学成分复杂,含有苦参碱、苦参素,有一定的保肝作用,也具体降酶及降脂作用,值得进一步研究.余轶群等^[72]认为何首乌、三七有补肾活血之功效,应用何首乌及三七提取物治疗NASH大鼠10 wk,并与易善复对照组相比较,结果中药组大鼠血清LDL、TG、AST、ALT明显降低,而肝组织中PPAR α mRNA、PGC-1 α mRNA表达明显增多,提示何首乌、三七提取物对肝脏脂质代谢有改善和促进作用,并可改善NASH大鼠炎症反应.张永华等^[73]应用枳椇子水提液治疗后NASH大鼠实验发现,与凯西莱联合易善复组相比,枳椇子组大鼠肝脏脂肪病变、炎症程度明显改善,ISI指数明显提高,血清肝功能、TNF2 α 、IIL28、FFA和肝组织MDS、SOD水平均明显下降($P<0.05$),提示枳椇子水提液对NASH具有较好治疗作用,其作用机制可能与提高胰岛素敏感性、抗氧化、抑制炎症细胞因子等有关.

4.2 中药复方 近年来,随着医学分子生物学的进一步发展,中医药对于非酒精性脂肪肝的实验研究也进一步拓展,其侧重点也由生化、病理学转移到细胞和分子生物学,由对作用机制的探讨到对作用靶点、调控环节的分析,研究水平日趋深入.谢春娥等^[74]研究拟动态观察肝脂消胶囊对高脂血症大鼠血清TC、TG、LDL、HDL及体质量的影响,并观察对大鼠高血脂30 d时肝TC、TG、LDL、HDL含量,肝指数、肝脂肪面积与厚度的变化,发现肝脂消胶囊有明显降血脂、拮抗HDL降低、升高肝指数、降低肝脂的作用.栗凤霞等^[75]研究复方中药(夏枯草,

海藻, 何首乌, 金钱草等)对NAFLD模型大鼠的影响, 检测血及肝组织中总TG、TC、FFA及血中ALT、AST的含量, 观察肝组织学变化, 并测定酰基辅酶A氧化酶(AOX)的表达. 认为中药治疗NAFLD有明显疗效, 可能是通过激活PPAR- α 使AOX上调实现的. 施军平等^[76]研究理气化痰祛瘀方对NASH大鼠肝组织PPAR和CPT-1表达的影响, 结果发现理气化痰祛瘀方能明显增强NASH大鼠肝组织PPAR α 和CPT-1基因表达, 抑制肝组织PPAR γ 蛋白和基因表达, 王晓素等^[77]观察清肝化痰活血方对NASH模型大鼠过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因表达的影响, 结果提示: 清肝化痰活血方可能是通过增加PPAR α 的表达而改善肝脏的脂质代谢, 起到抗脂肪变性和保护肝细胞的作用.

5 结论

总结近年来NAFLD的中医药研究现状, 可以看出, 中医药学界在NAFLD的病名探讨、病因病机、临床治疗及实验研究等方面做了大量的工作, 拓宽了思路, 积累了经验, 为进一步深化研究奠定了基础. 展望未来, 我们就目前存在问题及今后的对策提出以下看法. (1)重视病因分类对比研究: 肥胖、糖尿病、高脂血症、胰岛素抵抗所致脂肪肝同属NAFLD, 到底是上述哪种病因所引起, 对不同病因所导致的脂肪肝较少区分, 这样不利于对疾病的病理本质进行深入研究. 因此, 应区分脂肪肝是酒精性还是非酒精性, 其病因是肥胖、糖尿病、高脂血症、胰岛素抵抗哪一种或几种合并存在, 以便进行病因分类对比研究. (2)重视NAFLD中医病机演变的深入研究: 本病有多种致病因素, 可继发于多种疾病, 个体差异性较大, 现代医学认为脂肪肝的发病开始为肝脏脂肪沉积, 再由氧应激, 脂质过氧化, 内毒素等引起的细胞因子释放而引起肝损伤, 然后向脂肪性肝炎及肝硬化发展. 中医病机是疾病一个阶段性的演变过程, 不同的病因完全有可能在病机和证型方面存在差异, 因此在临床设计上要考虑对不同病因和不同病理阶段的脂肪肝区分, 对不同病因和不同病理阶段的脂肪肝患者的临床治疗效果进行分析, 找出其规律. (3)重视建立各项诊断和疗效评定标准: 由于缺乏统一的诊疗标准及规范化研究, 关于NAFLD的中医药研究存在一定的重复、遗漏及失误, 某种程度上浪费了有限的科研资源, 而且未能很好的指导临床, 也使相互之间的交流

存在一定的障碍. 因此, 今后的工作重点是建立和完善各项诊断和疗效评定标准, 以便更好地揭示中医药治疗NAFLD的疗效, 提高临床学术水平. (4)重视NASH动物模型的研究: NAFLD的病因多端, 因此在进行动物造模时, 所采用的方法也应多样化, 比如通过改变饲料的方式来造模与人类饮食结构变化的病因相类似, 但显然这一方法与人类生活作息习惯的改变、情志变化等病因就相差较大. 另外缺乏体现中医药特点的“病”、“证”结合的动物模型, 不能充分体现中医辨证论治的特色. 目前国内NASH模型的建立多采用高脂饮食诱导的方法, NAFLD、肥胖症、II型糖尿病和高脂血症均属于代谢综合征之一, 临床上往往同时存在, 因此在动物造模时需要考虑动物既要出现NASH, 同时大鼠体重超重, 并伴有糖尿病与高脂血症的存在. 同时在实验造模研究过程中必须具备病证结合的动物模型. (5)重视患者生存质量的研究: 重视药物治疗, 忽视合理膳食营养、体育锻炼等生活指导; 过分强调血脂、肝功等客观指标疗效评价, 忽视中医药对患者生存质量的提高. 中医药治疗本病可以明显改善患者的生活质量, 目前国内采用汉化版SF-36健康调查量表进行评价较普遍, 但缺乏中医特色; 患者报告结局指标(PRO)是近些年来国外在健康相关的生存质量之上发展起来的评价指标. PRO量表, 即患者报告结局指标的测评量表. 在慢性病领域, 从患者报告结局指标的角度入手, 以量表作为工具来评价中医临床疗效, 已经逐渐被认可. 借鉴量表的制作原则和方法, 研制具有中医特色的NAFLD的PRO量表, 对本病的疗效评价有借鉴意义. (6)重视中药安全性研究: 研究证实长期大剂量服用中药, 特别是中药复方, 也会导致肝肾功能损害等. 多数的研究报道都重视临床疗效, 忽视了中药毒性的研究, 导致患者及家属存在“中药无毒”的思想误区. 不少临床研究报道所使用的中药剂量远远超出其安全使用范畴, 在今后的科研及临床实践中应予以重视. (7)重视中药复方的作用机制研究: 目前, 关于中药疗效的实验研究以单味中药以及活性成分居多, 对于复方制剂研究不足, 而中药复方的疗效与各药物之间的相互作用密切相关, 故将复方中的每一味药孤立研究, 并不符合临床实际. 此后的研究, 应注意中药复方配伍、化裁对疗效的影响, 以明确中药复方的作用机制.

同行评价

作者对非酒精性脂肪性肝病的病名、病因病机、临床研究及实验研究进展进行了总结归纳, 就目前存在问题及今后的对策提出了自己看法, 可读性较好.

6 参考文献

- 1 萧树东, 许国铭. 中华胃肠病学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 591-597
- 2 姜桂宁. 消、补法在非酒精性脂肪性肝炎治疗中的应用. 山东中医药大学学报 2007; 31: 283-285
- 3 张声生, 王垂杰, 沈洪. 特色专科实用手册·消化病. 第1版. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 214-221
- 4 袁洋, 卜平, 孔桂关, 郑新梅, 陈浩. 酒精性脂肪肝证候病机的研究. 中西医结合肝病杂志 2007; 17: 40-42
- 5 张冀萃, 刘文全. 脂肝消治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 天津中医药 2008; 25: 113-114
- 6 石拓, 叶勇, 时昭红, 李轶西, 刘怡. 化痰活血方治疗高脂非酒精性脂肪肝患者50例. 中国中西医结合消化杂志 2007; 15: 344-345
- 7 王微, 张喆, 符思, 韩春生. 化浊去瘀方治疗非酒精性脂肪肝临床研究. 广州中医药大学学报 2007; 24: 272-275
- 8 许兵华, 程井军. 健肝消脂汤治疗非酒精性脂肪肝的临床观察. 湖北中医杂志 2007; 29: 31-32
- 9 朱小区, 曹家麟. 温肾升阳汤治疗非酒精性脂肪肝35例. 实用中西医结合临床 2004; 4: 44
- 10 许雪荷, 贺松其, 段慧, 管延美, 李健薇, 李莹莹. 非酒精性脂肪肝的辨治规律探析. 新中医 2009; 41: 8-9
- 11 孟萍, 邓棋卫, 王静, 钟彩华, 万军, 王平珍, 姜国贤. 中医体质因素与非酒精性脂肪肝的发病相关性研究. 光明中医 2008; 23: 1245-1247
- 12 金钊, 金华. 扶元调脂汤治疗非酒精性脂肪肝35例. 中医研究 2007; 20: 24-25
- 13 苏经格. 四君子汤加味治疗非酒精性脂肪肝临床观察. 中国医药学报 2004; 19: 494-495
- 14 付静, 杨素珍. 中西医结合治疗非酒精性脂肪肝的临床观察. 中国中西医结合急救杂志 2004; 11: 185
- 15 刘敏, 李佳明. 非酒精性脂肪肝(NAFLD)辨治体会. 中国社区医师: 综合版 2005; 7: 48
- 16 杨晋原, 康永. 活血降脂胶囊治疗非酒精性脂肪肝48例. 中西医结合肝病杂志 2006; 16: 114-116
- 17 刘洪波. 脂平汤治疗非酒精性脂肪肝98例. 河南中医 2006; 26: 33-34
- 18 闫智勇. 肝主疏泄与脂质代谢理论和实践探讨. 中医药导报 2009; 15: 13-15
- 19 陈丽华, 刘青, 徐成山. 脂肝康治疗非酒精性脂肪肝43例临床观察. 甘肃中医 2007; 20: 320-321
- 20 曾映荷, 陆定波. 消脂汤治疗非酒精性脂肪肝30例. 中西医结合肝病杂志 2007; 17: 174-175
- 21 王京齐, 张景, 薛凤敏, 王海峰. 四生降脂方治疗非酒精性脂肪肝64例临床观察. 北京中医药 2008; 27: 207-208
- 22 凌曼芝. 桑明合剂治疗非酒精性脂肪肝60例. 四川中医 2007; 25: 42-44
- 23 党中勤, 赵长谱, 党中方, 王宇亮. 十味肝脂康胶囊治疗非酒精性脂肪肝(痰瘀内阻型)临床观察. 河南中医 2007; 27: 37-39
- 24 黄静娟, 刘树军, 车念聪. 论痰瘀理论对非酒精性脂肪肝辨证与治疗的指导作用. 中华中医药杂志 2006; 21: 765-767
- 25 车念聪. 非酒精性脂肪性肝病的中医证治研究. 中西医结合肝病杂志 2008; 18: 257-259
- 26 曹建春. 辨证治疗脂肪肝60例疗效观察. 浙江中西医结合杂志 2002; 12: 490
- 27 罗军. 脂肪肝的辨证施治. 陕西中医 2005; 26: 1339-1340
- 28 孟萍, 万军, 邓棋卫. 非酒精性脂肪肝的辨体调养. 中国中医药现代远程教育 2008; 6: 1490-1491
- 29 刘文全, 商红叶, 张琴. 辨证与辨病结合治疗非酒精性单纯性脂肪肝133例疗效观察. 新中医 2005; 37: 43-44
- 30 杨钦河, 凌家生, 平换换, 温承远. 非酒精性脂肪肝的中医药防治思路与对策. 中医杂志 2007; 48: 746-748
- 31 盛国光, 黎运呈, 邵卫. 中医辨证法对NAFLD大鼠肝功能的影响. 湖北中医杂志 2008; 30: 7-9
- 32 陈俊英. 活血化痰方治疗非酒精性脂肪肝40例临床观察. 湖南中医杂志 2008; 24: 31-32
- 33 赵汉林, 何海波. 中药治疗非酒精性脂肪肝51例. 医学理论与实践 2009; 22: 810-811
- 34 张卫星, 吴忆东. 补肝肾法治疗2型糖尿病性非酒精性脂肪肝50例. 浙江中医杂志 2009; 44: 269
- 35 浦忠平, 花海兵. 加味温胆汤治疗非酒精性脂肪肝53例. 江苏中医药 2009; 41: 41-42
- 36 杜慧芳. 调脂疏肝汤治疗轻中度非酒精性脂肪肝90例. 中医研究 2008; 21: 55-56
- 37 刘中文. 降脂脂肪肝汤治疗非酒精性脂肪肝42例临床观察. 中医药导报 2009; 15: 31-32
- 38 谢体学. 降脂舒肝汤治疗非酒精性脂肪性肝炎临床观察. 湖北中医杂志 2009; 31: 15-16
- 39 韩素萍, 田锋亮, 王强. 舒肝健脾化痰颗粒治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 辽宁中医药大学学报 2008; 10: 71-73
- 40 朱初良, 殷小兰. 疏肝健脾活血法治疗脂肪肝50例总结. 湖南中医杂志 2007; 23: 23-24
- 41 陈利群. 丹栀逍遥散加味对肥胖伴非酒精性脂肪性肝病及胰岛素抵抗的影响. 中西医结合肝病杂志 2008; 18: 21-22
- 42 蔡虹. 清热利湿健脾化痰法治疗肥胖性脂肪肝18例. 福建中医药 2003; 34: 10-11
- 43 陶琳, 张声生. 疏肝化痰活血法治疗非酒精性单纯性脂肪肝30例的临床观察. 中华中医药杂志 2008; 23: 552-553
- 44 陈利群, 王骏. 逍遥散合当归芍药散治疗非酒精性脂肪性肝病临床观察. 中国中医急症 2008; 17: 37-40
- 45 刘燕. 扶正通络胶囊治疗非酒精性脂肪肝38例. 中西医结合肝病杂志 2002; 12: 119-120
- 46 王兵, 霍清萍, 马建慧. 舒肝活血化痰法治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 上海中医药杂志 2005; 39: 23-24
- 47 卑其新. 益肾调脂护肝汤治疗脂肪肝46例. 实用中医药杂志 2004; 20: 65
- 48 祁颖欣. 温肾升阳法治疗脂肪肝临床观察60例. 中华临床医学研究杂志 2005; 11: 1410-1411
- 49 冯宇, 李军祥. 肝脂消对非酒精性脂肪肝患者降脂作用的研究. 中西医结合肝病杂志 2005; 15: 134-135
- 50 闫镛, 郭春生. 散瘀化痰汤治疗非酒精性脂肪肝45例临床研究. 河南中医 2006; 26: 26
- 51 吴厚琼. 自拟益肝降脂汤治疗非酒精性脂肪性肝病30例. 中西医结合肝病杂志 2009; 19: 52-53
- 52 胡苏妹. 疏肝健脾化痰法治疗非酒精性脂肪肝40例. 浙江中医杂志 2008; 43: 209
- 53 邓达荣. 疏肝健脾化痰法治疗非酒精性脂肪肝75例临床研究. 国医论坛 2008; 23: 17-18
- 54 吴其恺, 程井军, 聂广, 樊群. 脂炎消煎剂治疗非酒精性脂肪肝63例临床观察. 光明中医 2007; 22: 34-35
- 55 李海军, 李东, 孙殿兴. 健脾补肾中药治疗非酒精性脂肪性肝病的临床研究. 中西医结合肝病杂志 2007; 17: 203-205
- 56 赵晓琴, 张霖. 排毒降脂胶囊治疗非酒精性脂肪肝临床观察. 时珍国医国药 2007; 18: 474
- 57 史宏江, 俞文军. 祛脂调肝饮治疗非酒精性脂肪肝42例. 山西中医 2007; 23: 16
- 58 李英, 王晓素, 刘晓楠, 裴强, 周荣根, 王家渊. 清肝化痰活血方药治疗非酒精性脂肪性肝炎36例. 陕西中医 2009; 30: 16-18
- 59 黄欣, 张哲永. 当飞利肝宁胶囊治疗非酒精性脂肪性肝病32例临床观察. 中医杂志 2007; 48: 524-525
- 60 邓银泉, 范小芬, 李友第. 水飞蓟素治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床观察. 中国中医药杂志 2005; 30: 1044-1045
- 61 张分明. 血脂康治疗非酒精性脂肪肝35例临床分析.

- 中国基层医药 2006; 13: 1682-1683
- 62 赵文霞, 张玉禄. 消脂护肝胶囊对非酒精性脂肪肝患者胰岛素抵抗及瘦素水平的影响. 中医研究 2005; 18: 21-23
- 63 王骏, 张春燕, 程玲, 陈利群. 健脾法电针配合耳穴治疗肥胖性脂肪肝30例临床观察. 上海中医药杂志 2006; 40: 41-42
- 64 周丽, 程井军, 吴其恺. 电针治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床研究. 中国现代医学杂志 2006; 16: 1747-1751
- 65 梁学琳, 王治宇, 李晓林, 郭献忠, 苏毅. 中药结肠透析治疗非酒精性脂肪肝疗效观察. 浙江中西医结合杂志 2008; 18: 340-341
- 66 杨磊, 吕瑞民. 中西医结合治疗非酒精性脂肪肝70例临床观察. 中医药学报 2008; 36: 66-67
- 67 夏棣其, 刘淑娟, 杨钦河. 电针丰隆及足三里穴对非酒精性脂肪性肝炎大鼠的干预效应. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 9483-9486
- 68 孙朝霞, 范建高, 郑晓英. 丹参对高脂饮食大鼠脂肪性肝炎的影响. 药品评价 2007; 4: 119-120
- 69 江庆澜, 马军, 徐邦牢, 杨辉. 虎杖水提液对非酒精性脂肪性肝炎大鼠的干预效果. 广州医药 2005; 36: 57-59
- 70 李晶, 冯五金. 生山楂、泽泻、莪术对大鼠脂肪肝的影响及其交互作用的实验研究. 山西中医 2006; 22: 57-59
- 71 戴兆云, 顾翔宇, 吴一新. 山豆根醋浸液治疗非酒精性脂肪性肝炎疗效初步观察. 中国中西医结合杂志 2005; 25: 407
- 72 余铁群, 李军祥, 姬爱冬, 何首乌, 三七提取物对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝组织PPAR α 、PGC-1 α 水平的影响. 深圳中西医结合杂志 2009; 19: 69-80
- 73 张永华, 李勇峰, 张敏娜, 冯慧. 枳椇子水提取液治疗非酒精性脂肪性肝炎的实验研究. 浙江中西医结合杂志 2009; 19: 12-14
- 74 谢春娥, 李军祥, 司银楚. 肝脂消胶囊抗大鼠脂肪肝药效学实验研究. 中国医药学报 2004; 19: 561-563
- 75 栗凤霞, 吕宗舜, 王绪林. 复方中药治疗非酒精性脂肪性肝病的实验研究. 中国药物与临床 2005; 5: 108-111
- 76 施军平, 范建高, 陈芝芸, 何蓓晖, 严茂祥, 荀运浩. 理气化痰祛瘀方对非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝组织PPAR和CPT-1表达的影响. 中华中医药学刊 2008; 26: 1739-1744
- 77 王晓素, 李英, 王宪波, 刘晓楠, 薛冬英. 清肝化痰活血方对非酒精性脂肪性肝炎模型大鼠过氧化物酶体增殖物激活受体 α 基因表达的影响. 辽宁中医杂志 2008; 35: 309-310

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库. 此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊, 并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求.

截至目前, 我国只有两本期刊被PMC收录. 《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊. 《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录, 全文免费向公众开放, 见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-03-26)

非酒精性脂肪性肝病病证结合动物模型的研究进展

鞠大宏, 赵宏艳, 刘梅洁

■背景资料

非酒精性脂肪性肝病现已成为我国常见的慢性肝病之一, 中医药在治疗该病上取得了一定成绩. 辨证论治是中医治疗的特点之一, 但是目前的科研并没有将中医“证”的因素考虑其中, 本文主要探讨该病与证候相结合的动物模型制作方法, 为中医药治疗该病的疗效及机制的深入探讨提供有益参考.

鞠大宏, 赵宏艳, 刘梅洁, 中国中医科学院中医基础理论研究所北京市 100700

国家科技支撑计划重点基金资助项目, No. 2006BAI08B01
通讯作者: 鞠大宏, 研究员, 100700, 北京市东直门内南小街16号, 中国中医科学院中医基础理论研究所病理室.

judahong@sohu.com

电话: 010-84024005

收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-04-20

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Advances in animal models of nonalcoholic fatty liver disease that combine disease and syndromes

Da-Hong Ju, Hong-Yan Zhao, Mei-Jie Liu

Da-Hong Ju, Hong-Yan Zhao, Mei-Jie Liu, Department of Pathology, Institute of Basic Theory of Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Supported by: the National Key Technology R&D Program during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2006BAI08B01

Correspondence to: Professor Da-Hong Ju, Department of Pathology, Institute of Basic Theory of Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China. judahong@sohu.com

Received: 2009-12-31 Revised: 2010-04-20

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

As the incidence of obesity and type 2 diabetes mellitus increases in the general population, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a common problem in clinical practice. Although great advances have been made in the treatment of NAFLD based on syndrome differentiation, syndromes are not considered in animal models of NAFLD. This will prevent an in-depth investigation of the therapeutic efficacy of Chinese medicine against NAFLD and the underlying mechanisms. Here, we will review the recent advances in animal models of NAFLD that combine disease and syndromes.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Animal model combining disease and syndromes; Diabetes; Obesity

Ju DH, Zhao HY, Liu MJ. Advances in animal models of nonalcoholic fatty liver disease that combine disease and

syndromes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1452-1455

摘要

随着肥胖和糖尿病的发病率增加, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)现已成为我国常见的慢性肝病之一, 严重危害人民健康. 目前中医应用辨证论治方法治疗NAFLD, 取得了一定成绩, 但NAFLD动物实验研究采用的模型, 没有将中医“证”的因素考虑其中, 这样的实验研究或将在某种程度上, 影响了中医药治疗该病的疗效及其机制的深入探讨. 因此, 本文对NAFLD病证结合模型的研究作一深入探讨.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病, 病证结合动物模型; 糖尿病; 肥胖

鞠大宏, 赵宏艳, 刘梅洁. 非酒精性脂肪性肝病病证结合动物模型的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1452-1455
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1452.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征. 随着肥胖和糖尿病的发病率增加, NAFLD现已成为我国常见的慢性肝病之一, 严重危害人民健康^[1]. 目前对于NAFLD的治疗, 西医尚无特效疗法, 中医应用辨证论治方法治疗NAFLD, 取得了一定成绩^[2-4]. 目前开展的中医药治疗NAFLD动物实验研究采用的是病的模型, 没有将中医“证”的因素考虑其中, 这样的实验研究或将在某种程度上, 影响了中医药治疗该病的疗效及其机制的深入探讨. 病证结合动物模型一直是这些年来中医药探讨的热点, 目前尚未见到关于NAFLD病证结合模型的研究, 本文对此作一深入探讨.

1 NAFLD证型的选择

NAFLD在中医古代文献中并没有记载, 根据

■同行评议者

徐列明, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科; 王炳元, 教授, 中国医科大学附属第一医院消化内科; 王富春, 教授, 长春中医药大学针灸推拿学院

其症状及临床特点, 可将其归属于中医学的“胁痛”、“痞满”、“痰痞”、“瘀血”、“积聚”、“黄疸”等病的范畴. 最早记载见于《难经》: “肝之积, 名曰肥气”, 故也称之为肥气病, 是指体内肥脂之气过多地蓄积于肝脏. 《素问·痹论》: “饮食自倍, 肠胃乃伤”和吴鞠通“肝气之郁, 痰瘀阻络”, 揭示该病与情志、饮食、痰湿及瘀血有关. 现代众多医家亦认为, 饮食不节、起居无常、情志失调、久病体虚, 引起肝失疏泄, 脾失健运, 肾精亏损等导致肝、脾、肾三脏功能失调, 湿热痰瘀互结于肝而致, 其病位主要在肝, 与胆、脾、肾关系密切. 胡义扬教授^[5]认为, NAFLD病机与痰、湿、瘀、积等有关, 与肝、脾、肾三脏功能关系密切. 关幼波^[6]认为脂肪肝是由于肝炎治疗不彻底, 湿热未清, 湿伤脾阳, 运化失司, 聚湿生痰, 热伤阴血, 灼津生痰. 由于湿热互结, 阻滞血脉, 血液行涩, 而痰瘀交阻, 终成痞块. 加之饮食不节, 膏粱厚味, 嗜酒成性, 进一步促进了病情的发展, 其病位在肝脾, 主要病理变化为湿热凝痰, 痰瘀阻脉. 李军祥教授^[7]认为, NAFLD应重视肾虚血瘀对疾病发生发展的影响. 黄静娟等^[8]认为NAFLD的病因为饮食不节, 过食肥甘厚味, 恣意饮酒, 情志刺激. 肝脾肾三脏功能失调是本病病机的关键, 痰湿、瘀血是本病的主要病理基础.

目前NAFLD临床上尚未有统一的中医证型、分型标准以及治法方药. 临床常见的辨证分型有肝气郁滞、气滞血瘀、湿热内蕴、痰瘀互阻、痰湿内阻、肝郁脾虚、肝肾阴虚、肝阴不足、阳虚浊阻、脾气虚弱、肾气阴两虚等^[9-11]. 叶放等^[12]总结了2003年以前15年来国内主要中医刊物有关脂肪肝的报道223篇, 对其中出现的证型和用药频率进行统计, 在547个证型频次中, 出现频率依次为痰湿内阻(139)、瘀血(121)、肝气郁滞(121)、脾气虚弱(72)、肾气阴两虚(45)、湿热内蕴(35)、其他(14). 本文据此选择了最常见的血瘀型、肝气郁滞型、脾气虚弱型、肾虚型四种, 对NAFLD病证结合动物模型制作方法进行探讨.

2 NAFLD动物模型的选择

NAFLD是病理组织学改变与酒精肝相似, 但无过量饮酒史的一种慢性疾病^[13]. 具有脂肪变性、肝细胞损伤及炎症细胞浸润等病理组织损伤, 包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎和肝硬化3个阶段^[14]. 随着人类生活水平的提高和饮食结构

的变化, NAFLD的发病也呈现上升趋势. 人们对该病的研究也越来越深入, 但是对其发病机制尚不清楚. 动物模型是研究人类疾病的重要手段, 目前NAFLD的动物模型, 国内外已有很多报道^[15-17]. NAFLD动物模型主要可以分为两大类: 一类是由相关基因变异引起的遗传性模型(遗传性瘦素缺乏型小鼠模型、遗传性外周循环游离脂肪酸增加的小鼠模型、遗传性肝脏脂肪生成增加的小鼠模型及遗传性脂肪酸 β 2氧化减少的小鼠模型); 一类是由饮食或药物引起的获得性模型(获得性游离脂肪酸和肝脏脂肪生成增加的小鼠模型, 获得性脂肪酸 β 2氧化减少小鼠模型). 在众多复制NAFLD模型的方法中, 高脂饮食诱导的NAFLD模型最为常见.

在高脂饮食诱导非酒精性脂肪性肝病模型中, 一种以高脂饲料(含87.7%普通饲料+10%猪油+2%胆固醇+0.3%胆酸钠)喂养8-12 wk后可形成中至重度大泡性肝脂肪变, 伴转氨酶增高, 100%复制出非酒精性脂肪性肝病模型^[18]; 另一种是高脂配方的乳剂灌胃的造模方法, 采用高脂液体饲料喂养SD大鼠(脂肪71%, 碳水化合物11%, 蛋白质18%), 3 wk即可形成全小叶肝细胞脂肪变, 伴有肿瘤坏死因子 2α 和I型胶原mRNA的表达增强和YP2E1 mRNA表达下调, 可诱发线粒体损伤和氧化应激^[19]. 还有文献报导用花生油代替猪油制成高脂乳剂(花生油40 g、胆固醇15 g、奶粉8 g、蔗糖15 g等), SD大鼠连续灌胃, 5 wk内成功复制出大鼠非酒精性脂肪性肝病模型, 并且发现富含多不饱和脂肪酸的花生油可比猪油获得更为理想的造模效果^[20], 但有文献报道采用高脂乳剂灌胃, 实验动物常出现精神萎靡、皮毛无光蓬乱、腹泻、拒食、体质量下降甚至死亡的现象^[21,22]. 因此我们推荐选择高脂饮食诱导的NAFLD模型.

3 NAFLD病证结合动物模型制作方法探讨

3.1 血瘀型NAFLD 血瘀型动物模型是中医实验研究中常用的证型, 关于该证型的制作方法较多, 大鼠皮下注射大剂量肾上腺素加冰水刺激是最早制作的方法, 可复制出血液流变性呈黏、浓、凝、聚的血瘀证模型^[23,24]. 该模型全血黏度, 血浆黏度、全血还原黏度、血细胞比容、红细胞聚集指数、红细胞变形指数等血液流变学指标均有明显改变, 但这种造模方法由于动物的耐受差, 状态较差的大鼠易致死亡. 因此又相继出现了半高脂饲料复合声、光、电刺激血瘀模型,

■ 研发前沿

中医药治疗非酒精性脂肪性肝病的机制研究已开展很多, 但是一直没有一种能够符合中医证候理念的该疾病物模型的出现, 这样的实验研究或将在某种程度上, 影响了中医药治疗该病的疗效及治病机制的深入研究, 因此病证结合动物模型是中医药治疗该病及所有疾病疗效及机制研究的关键点.

■ 相关报道

大量研究表明中医药治疗脂肪肝的优势在于中医的精髓-辨证论治, 但是目前, 关于该问题的研究存在着诸多问题, 例如临床上尚需规范、系统的研究, 而科研中缺乏对中医证候、病因病机的系统研究等. 这些问题的解决, 将对中医药治疗脂肪肝的研究提高到一个新的水平.

■应用要点

进一步加强对非酒精性脂肪性肝病证候动物模型的基础研究,或在某种程度上,对于寻找中医药治疗该病的疗效及其机制的深入的研究具有重要的意义。

饥饿、疲劳等综合因素制作的气虚血瘀模型等多种的血瘀证方法^[25-27]。

我们推荐采用扈新刚等^[27]建立的血瘀证方法,结合NAFLD模型制作血瘀型NAFLD模型。具体方法如下:在室温24℃-25℃,水温22℃-24℃,直径150 cm、高度为60 cm(水深控制为45-50 cm)的圆形水槽,以大鼠体质量4%负重(误差为±0.5%,随大鼠体质量增加不断调整,大约每周调整1次)条件下游泳,停止游泳的条件是以大鼠沉入水中10 s不能自行浮出水面为准,然后立即将大鼠捞出。同时给予高脂饲料(含87.7%普通饲料+10%猪油+2%胆固醇+0.3%胆酸钠)喂养12 wk,实验动物自由进食和饮水。

3.2 肝气郁滞型NAFLD 自1979年湖南医学院用CCl₄注射法建立肝郁证动物模型以来,国内外已相继出现了许多种肝郁模型。这些模型主要从两方面入手,一是用过量或毒性药物造成急慢性中毒损伤来制造模型(艾叶注射法、肾上腺素皮下注射法等),二是通过情志刺激改变动物的生理状况来制造模型(如情志刺激造模法、颈部带枷单笼喂养法(模具法)、夹尾激怒打斗法、捆绑法等^[28-32]。

我们推荐采用模具法与夹尾激怒打斗法联合刺激制作肝气郁滞型模型,结合NAFLD模型制作肝气郁滞型NAFLD模型。具体方法如下:普通饲料适应性喂养1 wk后,模具法(将自制的颈部枷锁套在大鼠的脖子上,模具影响了大鼠日间理毛、挠痒等活动,从而引起大鼠情志变化)与夹尾激怒打斗法(用以纱布包裹尖端的止血钳夹住其中的一只大鼠的尾巴,令其与其他大鼠打斗,进而激怒全笼大鼠,每次刺激30 min)^[28-32]交替使用,同时给予高脂饲料(含87.7%普通饲料+10%猪油+2%胆固醇+0.3%胆酸钠)^[18]喂养12 wk,实验动物自由进食和饮水。

3.3 脾气虚弱型NAFLD 用泻下法致脾虚是脾虚证模型最常用的造模方法,其中绝大多数为苦寒泻下法^[33-35]。早在1983年,于尔辛等用纯系雌性BALB/c小鼠,以大黄芒硝合剂灌胃,2-3 d起出现便软、溏,并持续腹泻,第4-5天起形体消瘦,少活动,毛散乱无华,四肢冷,形成一系列类似脾虚的症状。目前还有饮食失节法、耗气破气法、劳倦过度法、过劳加饥饱失常法、劳倦过度加饮食不节法、利血平法等多种方法制作脾虚动物模型^[36-38]。

我们推荐采用经典的苦寒泻下法制作脾虚证模型,结合NAFLD模型制作脾气虚弱型

NAFLD模型。具体方法如下:普通饲料适应性喂养1 wk后,给大鼠灌服大黄水煎剂^[36]5 g/(kg·d),同时给予高脂饲料(含87.7%普通饲料+10%猪油+2%胆固醇+0.3%胆酸钠)^[18]喂养12 wk,实验动物自由进食和饮水。

3.4 肾虚型NAFLD 去势法(去除双侧的卵巢或睾丸及附睾)是最常用的肾虚证模型造模方法^[39,40],目前还有氢化可的松、羟基脲法、甲基硫氧嘧啶法及肾上腺次全切除法等多种方法制作肾虚动物模型^[41,42]。

我们推荐采用经典的去势法制作肾虚证模型,结合NAFLD模型制作肾虚型NAFLD模型。具体方法如下:普通饲料适应性喂养1 wk后,切除大鼠双侧的睾丸及附睾^[39],同时给予高脂饲料(含87.7%普通饲料+10%猪油+2%胆固醇+0.3%胆酸钠)^[18]喂养12 wk,实验动物自由进食和饮水。

4 结论

辨证论治是中医药治疗NAFLD的优势所在,治疗时可以在基本方的基础上加减治疗,因此具有广阔的前景。建立切实符合疾病发病内在本质的动物模型的制作方法,对中医学的发展具有重要意义,其将有助于中医治疗方法、治疗机制的深入探讨,以进一步提高疗效,有助于方剂配伍规律以及物质基础的揭示,有助于中药新药的研制等,并将成为中医理论与现代科技结合的一个突破口,为中医方药和临床研究提供广阔的前景。但要造出理想的中医证候结合动物模型,得到学界的公认,目前还有很大的难度。本文中所论及的不同证型的NAFLD动物模型,是在中医理论指导下,选择临床常见的证候并结合现有的公认的证候模型而提出来的,肯定存在不足之处,希望能对NAFLD病证结合动物模型的研究起到抛砖引玉的作用。

5 参考文献

- 1 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 实用肝脏病杂志 2007; 10: 1-3
- 2 季光, 范建高, 陈建杰, 陆伦根, 邢练军, 郑培永, 顾宏刚, 魏华凤, 尤圣富, 寿德刚, 朱培庭. 胆宁片治疗非酒精性脂肪性肝病(湿热型)的临床研究. 中国中西医结合杂志 2005; 25: 485-488
- 3 武润梅, 苏娟萍. 非酒精性脂肪肝的中医研究进展. 山西中医 2008; 24: 52-53
- 4 张慧, 孔祥廉. 非酒精性脂肪肝的中医药治疗. 亚太传统医药 2009; 5: 103-105
- 5 胡义扬. 脂肪肝的中医药治疗—一个值得深入研究的课题. 中西医结合肝病杂志 2001; 11: 129-130
- 6 广州中医药大学《中医内科五脏病学》编委会. 中医内科五脏病学. 广州: 广东科技出版社, 2001: 31
- 7 余轶群, 李军祥, 姬爱冬. 何首乌与三七提取物防治大

- 鼠非酒精性脂肪性肝病的实验研究. 山西中医 2009; 25: 54-56
- 8 黄静娟, 刘树军, 车念聪. 论痰瘀理论对非酒精性脂肪肝辨证与治疗的指导作用. 中华中医药杂志 2006; 21: 765-767
 - 9 叶蕾. 非酒精性脂肪肝纤维化指标与中医辨证分型相关性探讨. 北京中医药大学学报(中医临床版) 2004; 11: 15
 - 10 邓银泉, 范小芬, 李剑平. 非酒精性脂肪肝痰瘀证与纤溶状态的关系. 中国中西医结合杂志 2005; 25: 22-24
 - 11 邓银泉, 范小芬. 非酒精性脂肪肝纤维化指标与中医证型的关系. 中国中西医结合杂志 2001; 21: 652-653
 - 12 叶放, 赵文霞. 中医对非酒精性脂肪肝的研究现状. 中国中西医结合消化杂志 2003; 11: 60-62
 - 13 Jansen PL. Nonalcoholic steatohepatitis. *Neth J Med* 2004; 62: 217-224
 - 14 Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-1219
 - 15 Nanji AA. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease and steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2004; 8: 559-574, ix
 - 16 Koteish A, Diehl AM. Animal models of steatosis. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 89-104
 - 17 杨坤, 孔华丽. 脂肪肝动物实验模型的方法学研究进展. 解放军药理学学报 2005; 21: 374-376, 400
 - 18 Hatsugai K, Ohkohchi N, Fukumori T, Akamatsu Y, Satomi S. Mechanism of primary graft non-function in a rat model for fatty liver transplantation. *Transpl Int* 2000; 13 Suppl 1: S583-S590
 - 19 Lieber CS, Leo MA, Mak KM, Xu Y, Cao Q, Ren C, Ponomarenko A, DeCarli LM. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 502-509
 - 20 Zou Y, Li J, Lu C, Wang J, Ge J, Huang Y, Zhang L, Wang Y. High-fat emulsion-induced rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Life Sci* 2006; 79: 1100-1107
 - 21 潘惠娟, 王超英, 方志敏. 苦丁茶对大鼠高脂血症及脂肪肝形成的影响. 浙江中医杂志 2003; 38: 404-405
 - 22 戴林, 邓彬, 李爱萍, 于洪波, 白成, 卢盛明. 非酒精性脂肪性肝炎发病机制的实验研究. 临床肝胆病杂志 2004; 20: 285-286
 - 23 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海: 上海科学技术出版社. 1991: 1451
 - 24 刘月桂, 冯坤, 张灵菊. 对血瘀证动物模型造模药物 Adr最适浓度的探讨. 中国血液流变学杂志 2001; 12: 60-61, 64
 - 25 苗兰, 潘映红, 任建勋, 刘建勋. 气滞血瘀证模型大鼠血清蛋白质组学初步研究. 中国中医基础医学杂志 2008; 14: 106-107
 - 26 黄海军, 周迎春. 血瘀复合证动物模型的研制进展. 辽宁中医药大学学报 2009; 11: 222-223
 - 27 扈新刚, 张允岭, 郑宏, 张锦, 闫妍, 黄启福. 气虚血瘀大鼠模型糖脂代谢及氧化应激反应研究. 北京中医药大学学报 2009; 32: 249-251
 - 28 陈小野. 实用中医证候动物模型学. 北京: 中国协和医科大学、北京医科大学联合出版社, 1993: 264
 - 29 乔明琦, 张惠云, 陈雨振, 韩秀珍, 姚泽贤, 刘长华, 宋承木. 肝郁证动物模型研究的理论思考. 中国医药学报 1997; 12: 298-300
 - 30 吕志平, 刘承才. "肝郁"大鼠血浆TXA₂、PGI₂水平与肝微循环变化及逍遥散作用. 中国微循环 2000; 4: 160-161
 - 31 陈可冀. 活血化瘀研究与临床. 北京: 中国协和医科大学、北京医科大学联合出版社, 1993: 162
 - 32 须惠仁, 傅湘琦, 向丽华, 陈燕萍, 刘金红, 逯波. 肝郁证的动物实验研究-激怒刺激对大白鼠血液流变学的影响. 中医杂志 1991; 32: 44-47
 - 33 北京师范大学生物系消化生理科组. 中医脾虚证动物模型的造型. 中华医学杂志 1980; 60: 83-86
 - 34 刘汶, 张敦义. 番泻叶致脾虚证动物模型的造型方法. 中国中西医结合脾胃杂志 1998; 6: 231-232
 - 35 陈小野, 邹世洁, 张智, 易崇勤, 王丽华, 金敬善. 大鼠长期脾虚造模的实验研究. 中国中医基础医学杂志 1995; 1: 37-41
 - 36 黄炳山, 毛翼楷, 范隆昌, 牟树理, 王其方, 许健鹏. 饮食失节所致的脾虚动物模型及中药治疗观察. 中西医结合杂志 1983; 3: 295-296
 - 37 罗光宇, 黄秀凤, 杨明均. 偏食法塑造大鼠脾气虚证模型研究. 中医杂志 1990; 31: 49-51
 - 38 刘学松, 黄树明, 李织. 利血平致动物脾虚模型机制的研究. 中国医药学报 1989; 4: 68-70
 - 39 鞠大宏, 于福祿, 张丽坤, 于智敏, 赵宏艳, 刘梅洁, 张立石, 刘红, 潘静华, 王少君. 滋阴补肾法对卵巢切除所致骨质疏松大鼠成骨细胞COX-2蛋白和mRNA表达的影响. 中国中医基础医学杂志 2006; 14: 44-46
 - 40 钱汝红, 庄剑青, 杨秋美, 梁玲利, 郭瑞新, 蔡承妹, 杨扬. 肾虚大鼠脑内雄激素受体的基因表达及补肾中药的调节作用. 中国老年学杂志 2005; 25: 1086-1089
 - 41 高岗, 杨根金, 娄子洋. 肾虚证大鼠尿液的核磁共振谱代谢组学研究. 第二军医大学学报 2009; 30: 565-568
 - 42 陈小野, 邹世洁, 王震, 吕爱平, 艾景录. 大鼠肾上腺次全切除肾阳虚模型胃、舌病理观察. 中国中医基础医学杂志 1999; 5: 20

■同行评价

本文对常见的NAFLD病证结合动物模型制作方法进行了论述, 对中医病证动物实验研究具有指导意义.

编辑 李军亮 电编 何基才

酒精性肝病与非酒精性脂肪性肝病的鉴别诊断

姚树坤, 高春

■背景资料

随着肥胖和糖尿病发病率的增加, NAFLD现已成为我国常见的慢性肝病之一, 严重危害人民健康. 酒精性肝病(ALD)是由于长期大量饮酒所致的慢性疾病, 初期通常表现为脂肪肝, 进而可发展成酒精性肝炎、酒精性肝纤维化和酒精性肝硬化, 严重酗酒时甚至可诱发肝细胞坏死及肝功能衰竭. 谈及NAFLD和ALD的鉴别诊断, 有人会觉得非常简单, 事实并非如此. 这里面尚存在着较多的问题和未知因素.

Differential diagnosis between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease

Shu-Kun Yao, Chun Gao

Shu-Kun Yao, Chun Gao, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, Ministry of Health, Beijing 100029, China

Correspondence to: Professor Shu-Kun Yao, Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, Ministry of Health, Beijing 100029, China. yaosk@zryhy.com.cn
Received: 2009-12-31 Revised: 2010-04-20

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

In terms of differential diagnosis between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease, there are more questions than answers, such as unreliability of alcohol consumption history, nonspecific clinical manifestations, lack of available biological markers, uselessness of image results, and unavailability of liver biopsy samples. In this review, we identify some key points for differential diagnosis between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease, including past history, risk factors, clinical manifestations, biochemical results, image examinations, and liver biopsy findings. In addition, some strategies for differential diagnosis and relevant research advances are reviewed. However, more attention should be paid and more future studies are required to resolve these questions.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Alcoholic liver disease; Differential diagnosis

Yao SK, Gao C. Differential diagnosis between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1456-1460

■同行评议者

管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验医学教研室

摘要

非酒精性脂肪性肝病和酒精性肝病的鉴别诊断方面目前尚存在较多的问题和未知因素, 如: 过多地依赖并不可靠的饮酒史, 临床表现没有特异性, 缺乏有效的生物标志物, 影像学检查无法鉴别, 活检组织较难获取等. 本文从病史、危险因素、临床表现、生化检查、影像学诊断、活检和病理组织学等方面, 给出了主要的鉴别点, 并且进行了相应的评论. 最后, 给出了鉴别诊断的基本思路和研究进展. 但是, 就该问题而言, 这些远远不够, 未来需要更多的研究来充实和完善, 以促使我们对该问题的认识越来越深刻.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 酒精性肝病; 鉴别诊断

姚树坤, 高春. 酒精性肝病与非酒精性脂肪性肝病的鉴别诊断. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1456-1460
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1456.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征, 包括单纯性脂肪肝以及由其演变的脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化, 胰岛素抵抗和遗传易感性与其发病关系密切. 随着肥胖和糖尿病发病率的增加, NAFLD现已成为我国常见的慢性肝病之一, 严重危害人民健康. 酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是由于长期大量饮酒所致的慢性疾病, 初期通常表现为脂肪肝, 进而可发展成酒精性肝炎、酒精性肝纤维化和酒精性肝硬化, 严重酗酒时甚至可诱发肝细胞坏死及肝功能衰竭.

谈及NAFLD和ALD的鉴别诊断, 有人会觉得非常简单, 事实并非如此, 这里面尚存在着较多的问题和未知因素^[1]. 首先, 鉴别NAFLD和ALD的主要依据在于是否有人为规定的饮酒量和饮酒时间. 对比一下2006-02由中华医学会肝

脏病学分会发布的两种疾病最新诊疗指南,大家会清晰地发现两者对于饮酒问题的规定上存在着一个较大的中间地带,即意味着部分人群在饮酒问题上介于两者的诊断标准之间.那么,如果有患者满足影像学、甚至病理学的诊断标准,单纯在饮酒问题上满足不了规定的诊断标准,我们该如何作出诊断呢?确实,指南也明确承认,需要“注意性别、遗传易感性等因素的影响”.即便是同样的饮酒量,对不同的患者会产生完全不同的影响,会不会产生病理的影响也是个未知数.再者,对酒精的饮用量和时间上的规定尚缺乏大规模的循证医学数据的支持,所谓的“正常值范围”还有待修正.以上各点清晰的说明,以患者和/或家属回忆和口述的饮酒史作为两种疾病鉴别的主要依据,显得非常不可靠和牵强.

其次,NAFLD和ALD既然是两种疾病,会不会存在重叠的情况,即一个患者既有NAFLD,又同时患有ALD?也许会有人辩称,这两种疾病其实本质上一致的,后面的病理学过程也存在较多的类似之处,只不过是诱发因素有差异而已.事实真的如此吗?就从临床转归来说,由酒精所致,随后发生肝硬化和肝癌的机会要远超过非酒精性脂肪性肝病.有无酒精及其代谢产物的影响,会对疾病的发生和发展产生不同的推动作用^[2].如果NAFLD和ALD在致病机制上存在不同,二者就存在重叠发病的可能.如果NAFLD和ALD同时发生在一个患者身上,我们应该如何作出诊断和鉴别诊断呢?另外,诊断指南提到,NAFLD和ALD都需要排除病毒性肝炎、药物性肝病等可导致脂肪肝的特定疾病.其实,他们与NAFLD及ALD合并发生的机会更大,这时候,我们又该如何作出诊断和鉴别诊断呢?最后,也许有人会拿活检和病理组织学检查作为挡箭牌,号称“诊断的金标准”.事实上,这里面依然存在问题,我们将在下文中逐一阐述.

以上只是先抽取四点来说明在二者鉴别诊断中存在的问题,下面在回顾诊断要点后,我们会从病史、危险因素、临床表现、生化检查、影像学诊断、活检和病理组织学检查等方面分别进行阐述及评论.最后,我们会给出鉴别诊断的基本思路和研究的最新进展.

1 NAFLD和ALD的诊断要点

NAFLD的诊断要点:(1)无饮酒史或饮酒折合乙醇量男性每周<140 g,女性每周<70 g;(2)除外病

毒性肝炎、药物性肝病、全胃肠外营养、肝豆状核变性等可导致脂肪肝的特定疾病;(3)除原发疾病临床表现外,可有乏力、消化不良、肝区隐痛、肝脾肿大等非特异性症状及体征;(4)可有体质量超重和/或内脏性肥胖、空腹血糖增高、血脂紊乱、高血压等代谢综合征相关组分;(5)血清转氨酶和 γ -谷氨酰转肽酶水平可有轻到中度增高(小于5倍正常值上限),通常以丙氨酸氨基转移酶增高为主;(6)肝脏影像学表现符合弥漫性脂肪肝的影像学诊断标准;(7)肝活体组织检查组织学改变符合脂肪性肝病的病理学诊断标准.

ALD的诊断要点:(1)有长期饮酒史,一般超过5年,折合酒精量男性 ≥ 40 g/d,女性 ≥ 20 g/d,或2 wk内有大量饮酒史,折合酒精量 > 80 g/d;但应注意性别、遗传易感性等因素的影响;(2)临床症状为非特异性,可无症状,或有右上腹胀痛、食欲不振、乏力、体质量减轻、黄疸等;随着病情加重,可有神经精神、蜘蛛痣、肝掌等症状和体征;(3)血清天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、总胆红素、凝血酶原时间和平均红细胞容积(MCV)等指标升高,禁酒后这些指标可明显下降,通常4周内基本恢复正常,AST/ALT > 2 有助于诊断;(4)肝脏B超或CT检查有典型表现;(5)排除嗜肝病毒的感染、药物和中毒性肝损伤等.

2 饮酒史-鉴别诊断的基础

从ALD的病名可以看出,饮酒史是诊断ALD的必备条件.如果完全没有饮酒史,根本不需要考虑ALD的诊断,在这种情况下如果满足其他条件,即可作出NAFLD的诊断,鉴别诊断的难度最小.难就难在有饮酒史的情况,我们大致可以将他分为以下几种情况:(1)短期大量饮酒史,达到诊断ALD规定的量和时间的标准;偶尔少量饮酒一般不会导致病理状态的发生;(2)长期大量饮酒史,达到诊断ALD规定的量和时间的标准;(3)长期饮酒史,没有达到诊断ALD规定的量和时间的标准,但是超过诊断NAFLD规定的量的标准;(4)长期饮酒史,没有超过诊断NAFLD规定的量的标准,但是出现ALD的部分诊断特征.

第1种情况比较简单,指的是2 wk内有大量饮酒史,折合酒精量 > 80 g/d.患者在这种情况下就医,一般多是由于肝细胞坏死及肝功能衰竭,很难是因为单纯性脂肪肝就诊,比较容易会

■ 研究前沿

非酒精性脂肪性肝病和酒精性肝病的鉴别诊断方面目前尚存在较多的问题和未知因素,如:过多地依赖并不可靠的饮酒史,临床表现没有特异性,缺乏有效的生物标志物,影像学检查无法鉴别,活检组织较难获取等.

■相关报道

部分学者认为HCV感染与NASH关系同样密切,有报道认为40%-80%的HCV中合并脂肪变性。

符合ALD的其他诊断标准,因此,也就容易作出ALD的诊断。在出现肝细胞坏死及肝功能衰竭的情况下,是否需要,或者说是否有必要考虑同时合并NAFLD,对临床来说,显得意义不大。第2和第4种情况,如果符合NAFLD和ALD其他相应的诊断标准,也可以作出相应诊断。对于第2种情况,理论上还存在着一种可能,就是饮酒史符合,但是其他不符合ALD的诊断标准。事实上,这种情况一般不会存在,不符合ALD的诊断,同样很难符合NAFLD的诊断,自然也就谈不上二者的鉴别诊断。当然,是否会合并存在,则存在过多未知的因素。对于第4种情况,就是在NAFLD基础上出现ALD的部分诊断特征,该如何作出诊断?这里说的一般是慢性肝炎和肝硬化的临床表现、生化异常以及特征性的影像学征象。ALD比NAFLD容易出现慢性肝炎和肝硬化的各种表现,但是处于脂肪性肝炎期的患者同样可以出现黄疸,进展为肝硬化的患者也可以出现相应的临床表现甚至发展成肝性脑病。因此,在这种情况下,我们通常还是会作出NAFLD的诊断。不过,对于第3种情况的判断可能会在一定程度上辅助该问题的判断。

最难的可能就是第3种情况,其他都符合,就是饮酒量及时间达不到诊断标准,我们该如何作出判断呢?NAFLD和ALD在诊断标准上存在太多的相似点,往哪边靠都不太合适。如果按照诊断标准,二者又都不能作出诊断,那是不是碰到这种情况,我们都不去诊断,似乎也不太合适。在这种情况下,我们的建议是通常先诊断脂肪肝,然后再按照后面的各个鉴别诊断要点,综合进行判断。这里先强调一点,既然ALD是由酒精引起,无论诊断NAFLD还是ALD后的首要任务都是先戒酒,戒酒后临床表现、生化指标等改变的趋势和过程,可能会辅助判断酒精在疾病发生和发展中发挥的作用,也就同样可以辅助二者的鉴别诊断。

3 危险因素-鉴别诊断的前哨兵

ALD的病因在于酒精及其代谢产物,NAFLD的病因不是很明确,通常认为主要的易患因素包括超重或肥胖、糖耐量异常或2型糖尿病以及高脂血症等,这些因素也被称为原发性因素。所谓的继发性因素包括营养不良、胃肠道术后、全胃肠营养、减肥造成体质量急剧下降、药物、工业毒物以及环境因素等。对照诊疗指南中的排除标准,大家会发现继发性因素也正是需要排除的

因素,所以,一般意义上的NAFLD不包括由继发性因素所致的脂肪性肝病,除非特指。

在排除明确病因后,出现下列情况时提示考虑NAFLD:有2型糖尿病、高脂血症及肥胖的家族史;腹型肥胖,或近期内有体质量增加和腰围增粗;糖耐量异常或2型糖尿病;血脂异常,包括甘油三酯水平增高、高密度脂蛋白胆固醇水平下降、低密度脂蛋白胆固醇水平增高;代谢综合征的其他表现,如高血压、冠心病、血管疾病等。2型糖尿病与非酒精性脂肪性肝炎(NASH)关系密切,超过55%的NASH患者患有糖尿病,2型糖尿病中同时存在NAFLD者占21%-78%^[3]。39%-100%的NASH患者中有肥胖,18.5%的肥胖者尸检证明存在NASH^[3,4]。92%的NASH患者不论是否合并高胆固醇血症,都会发生高甘油三酯血症^[5]。但其实,NASH同样也可以出现在没有上述代谢综合征相关因素的情况下^[6]。

病毒,尤其是丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)^[7]和药物^[3]等因素存在较多的争议。按照诊疗指南和临床诊断标准,他们属于应该被排除的行列,但事实并没有那么简单。一些药物也能导致NASH,如糖皮质激素、乙胺碘呋酮、雌激素、他莫西芬、硝苯地平等。部分学者认为HCV感染与NASH关系同样密切,有报道认为40%-80%的HCV中合并脂肪变性^[8]。对于这个问题,也许可以一分为二去看,如果病毒处于非复制状态且存在代谢危险因素时,归因于NAFLD可能更为合理。当然,如果我们能够探索到特异性的鉴别诊断指标,归因诊断、合并诊断和鉴别诊断就会变得容易,目前鉴别确实存在较大的困难。

4 临床表现及实验室检查

NAFLD和ALD的临床表现都没有特异性,不过ALD比NAFLD更容易出现慢性肝炎和肝硬化的临床表现。多数NAFLD患者无任何症状,而ALD常有明显的慢性肝炎和肝硬化的临床表现,包括食欲减退、恶心呕吐、乏力消瘦、肝区疼痛、黄疸、脾大、腹腔积液、贫血、肝掌、蜘蛛痣等,甚至出现肝外表现和神经精神系统的一系列症状和体征。因此,出现明显的慢性肝炎和肝硬化的临床表现,尤其是同时出现肝外和神经精神系统的表现时,较倾向于诊断ALD;当临床表现轻微,甚至无任何症状时,则倾向于诊断NAFLD。

实验室检查与临床表现类似,NAFLD最常

见的生化异常是转氨酶的升高, 通常高于正常值上限的1-4倍, ALT水平高于AST, ALT/AST比值通常 <1 , 即便是发生肝硬化时, 比值也很少 >2 . ALT增高多呈持续性, 即便治疗, 短期内也难以恢复到正常. GGT和ALP亦可升高, 以GGT升高更为明显. 其他各项指标的异常明显比ALD少见. ALD根据病程的不同, 可以出现一系列生化指标的异常, 包括白蛋白降低和凝血酶原时间延长等. 一般来说, ALT/AST >2 , 血清糖缺陷转铁蛋白阳性, MCV和血清免疫球蛋白水平增高, 以及谷氨酸脱氢酶/鸟氨酸氨基甲酰转移酶比值 >0.6 , 较倾向于诊断ALD.

值得注意的是, 禁酒后4 wk内各指标的变化非常有助于NAFLD和ALD的鉴别诊断. 如果禁酒后4 wk内ALT、AST降至正常上限值2倍以下, GGT降至正常上限值1.5倍或原有水平40%以下, 基本支持ALD的诊断. 相反, 变化幅度越小, 可能越倾向于诊断NAFLD.

5 影像学和病理学检查

超声、CT和MRI在脂肪肝的诊断上有重要的实用价值^[9-11], 其中超声敏感性高, CT特异性强, MRI在局灶性脂肪肝与肝内占位性病变鉴别时价值较大, 而且CT和MRI还可以半定量分析肝内脂肪含量. 但是对比NAFLD和ALD的诊疗指南, 大家会发现, 二者的描述几乎一模一样. 那么, 影像学在二者的鉴别诊断中是否有作用呢, 或者说, 影像学检查能否鉴别NAFLD和ALD? 答案是否定的. 影像学检查只能用来反映肝脏脂肪浸润的分布类型, 粗略判断弥漫性脂肪肝的程度, 提示是否存在显性肝硬化. 这意味着, 影像学检查不能区分单纯性脂肪肝与脂肪性肝炎, 难以检出 $<33\%$ 的肝细胞脂肪变, 也无法提示是否存在肝纤维化和早期肝硬化. 在这种情况下, 奢求借助影像学检查完成NAFLD和ALD病因学的鉴别诊断, 有些过于不切实际. 但是, 在科学技术飞速发展的今天, 在广大医学科研工作者的辛勤努力下, 也许在未来, 影像学检查能够给我们一些鉴别诊断上的提示.

病理组织学检查虽然比影像学检查来得直接, 但是目前在NAFLD和ALD的鉴别诊断上也是帮助不大^[12,13]. 尽管在组织病理学上, NAFLD和ALD还是存在部分不同, 比如: (1)中央静脉的改变多见于ALD, 包括中央静脉周围炎、中央静脉周围纤维化和中央静脉周围硬化性玻璃样坏死等, NAFLD仅为偶见; (2)Mallory小体和凋

亡小体多见于ALD, 但并非特异, 同样可以见于NAFLD; (3)ALD炎症一般比NAFLD重, 可以出现较为严重的坏死类型, 如融合性坏死和(或)桥接坏死. 但是对于明确诊断的ALD患者并不推荐行肝脏穿刺和活组织检查, 除非存在其他必要. 不过, 对于初步诊断NAFLD的患者, 肝穿刺活体组织学检查确实有助于在一定程度上明确病因和评价病变的严重程度. 借助活检组织能更容易发现二者存在的不同, 也许在目前, 这正是我们可以努力的方向.

6 鉴别诊断的基本思路

尽管目前在鉴别诊断上, 存在较多的问题和未知因素, 我们还是希望最大可能地提供给大家一些鉴别诊断的基本思路. 首先, 鉴别的前提是脂肪肝诊断的成立, 相信不会有人希望我们去谈脂肪性肝炎和酒精性肝硬化的鉴别. 明确脂肪肝的诊断应该更多的依赖影像学检查, 在此基础上结合临床症状和体征. 其次, 抓住目前最主要的鉴别点, 即有无饮酒史及具体情况. 如果不能明确鉴别或存在疑惑, 再结合其他方面. 第三, 实验室检查是目前可以获得的主要辅助鉴别点, 具体情况参见上文第4部分. 第四, 如果能够获得病理可能会很大程度上的辅助鉴别诊断, 也有助于排除其他病因. 最后, 实在不行, 或者无法获取病理, 可以采取诊断性治疗, 观察治疗效果及转归情况, 辅助最终的鉴别诊断.

7 鉴别诊断的研究进展

目前对于NAFLD和ALD的鉴别诊断方面研究较少, 更多的研究采用的是非脂肪肝患者或者健康人作为对照. 据我们查阅文献的结果, 仅有的1项研究是2006年美国梅奥医院Dunn等进行的1项横断面队列研究^[14]. 该研究以52例(每日饮酒量 >30 g, 或酒精中毒等)ALD患者与151例(每日饮酒量 <20 g)NAFLD患者为研究对象, 通过Logistic回归分析确定出区分ALD和NAFLD的四个最重要的变量, 即MCV、AST/ALT比值、体质量指数和性别. 根据这些变量计算得出ANI指数, 建立一种新的诊断模型. 结果发现: ANI指数用于区分ALD和NAFLD显著优于传统指标及其他主要的相关生物学标志物(包括组织病理学标志物蛋白酪氨酸磷酸酶1B、AST/ALT比值、GGT和糖缺乏转铁蛋白等). 研究提示ANI指数可准确鉴别ALD与NAFLD. 但是这远远不够, 研究过少, 且存在部分不足, 我们需要更多的研究

同行评价

本文从病史、危险因素、临床表现、生化检查、影像学诊断、活检和病理组织学等方面, 系统地讨论了非酒精性脂肪性肝病和酒精性肝病的鉴别诊断要点, 对临床实践具有一定的实际指导意义.

作为参考,才能最终指导临床实践.

8 结论

目前在NAFLD和ALD的鉴别诊断方面,尚存在较多的问题和未知因素.尽管我们从病史、危险因素、临床表现、生化检查、影像学诊断、病理活检等方面给出了主要的鉴别点,并且在最后也给出了鉴别诊断的基本思路和部分进展.但是,这些远远不够,我们需要更多的研究来充实和完善,也希望更多的临床医师能够有心从事该项研究,以促使我们对该问题的认识越来越深刻.

9 参考文献

- Erickson SK. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipid Res* 2009; 50 Suppl: S412-S416
- Ekstedt M, Franzén LE, Holmqvist M, Bendtsen P, Mathiesen UL, Bodemar G, Kechagias S. Alcohol consumption is associated with progression of hepatic fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 366-374
- Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. *CMAJ* 2005; 172: 899-905
- Mehta K, Van Thiel DH, Shah N, Mobarhan S. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and the role of antioxidants. *Nutr Rev* 2002; 60: 289-293
- Yu AS, Keeffe EB. Nonalcoholic fatty liver disease. *Rev Gastroenterol Disord* 2002; 2: 11-19
- Uslusoy HS, Nak SG, Gülten M, Biyikli Z. Liver histology according to the presence of metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease cases. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1093-1098
- Bell BP, Manos MM, Zaman A, Terrault N, Thomas A, Navarro VJ, Dhotre KB, Murphy RC, Van Ness GR, Stabach N, Robert ME, Bower WA, Bialek SR, Sofair AN. The epidemiology of newly diagnosed chronic liver disease in gastroenterology practices in the United States: results from population-based surveillance. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 2727-2736; quiz 2737
- Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P, Negro F. Steatosis in chronic hepatitis C: why does it really matter? *Gut* 2006; 55: 123-130
- Mottin CC, Moretto M, Padoin AV, Swarowsky AM, Toneto MG, Glock L, Repetto G. The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2004; 14: 635-637
- Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Masarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 485-489
- Roldan-Valadez E, Favila R, Martínez-López M, Uribe M, Méndez-Sánchez N. Imaging techniques for assessing hepatic fat content in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2008; 7: 212-220
- Joy D, Thava VR, Scott BB. Diagnosis of fatty liver disease: is biopsy necessary? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 539-543
- Vuppalanchi R, Unalp A, Van Natta ML, Cummings OW, Sandrasegaran KE, Hameed T, Tonascia J, Chalasani N. Effects of liver biopsy sample length and number of readings on sampling variability in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; 7: 481-486
- Dunn W, Angulo P, Sanderson S, Jamil LH, Stadheim L, Rosen C, Malinchoc M, Kamath PS, Shah VH. Utility of a new model to diagnose an alcohol basis for steatohepatitis. *Gastroenterology* 2006; 131: 1057-1063

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《中国期刊引证报告(扩刊版)》发布《世界华人消化杂志》 2008年影响因子0.729

本刊讯 《中国期刊引证报告(扩刊版)》是依托中国科学技术信息研究所国家工程技术数字图书馆“知识服务”系统,在“万方数据-数字化期刊群”基础上,结合中国科技论文与引文数据库(CSTPCD),以我国正式出版的各项6108种中英文期刊为统计源期刊.对全部期刊的引文数据,严格按题名、作者、刊名、年、卷、期、页等进行分项切分后,进行规范化处理和有效链接,经统计分析,编制而成.2008年《世界华人消化杂志》总被引频次3683次,影响因子0.729,即年指标0.142,引用期刊数732,学科扩散指标0.533,被引半衰期4.303,H指数8.(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

如何改善非酒精性脂肪性肝炎患者的肝功能

赵文霞

赵文霞, 河南中医学院第一附属医院消化科 河南省郑州市 450000

通讯作者: 赵文霞, 教授, 主任医师, 450000, 河南省郑州市人民路19号, 河南中医学院第一附属医院消化科.

zhao-wenxia@163.com

收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-04-20

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

How to improve liver function in patients with nonalcoholic steatohepatitis

Wen-Xia Zhao

Wen-Xia Zhao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China
Correspondence to: Professor Wen-Xia Zhao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, 19 Renmin Road, Zhengzhou 450000, Henan Province, China. zhao-wenxia@163.com

Received: 2009-12-31 Revised: 2010-04-20

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

The purpose of this paper is to explore how to improve liver function in patients with nonalcoholic steatohepatitis using Chinese and Western medicine approaches. Based on different understandings on the etiology and pathogenesis of diseases, different strategies are adopted to improve liver function in patients with nonalcoholic steatohepatitis between Chinese and Western medicine. Western medicine tends to use liver-protecting and transaminase-lowering drugs, insulin sensitizers, or statins, while Chinese medicine often, on the basis of combination of syndrome differentiation and disease differentiation, uses Chinese drugs (single herb or compound recipe) to protect liver function and regulate blood lipid and liver metabolism to treat diseases by looking into both their root causes and symptoms.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver hepatitis; Chinese and Western medicine; Liver function

Zhao WX. How to improve liver function in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi*

2010; 18(14): 1461-1464

摘要

为了探讨改善非酒精性脂肪性肝炎患者肝功能的中西医治疗方法. 根据中、西医对本病病因病机的不同认识, 在饮食运动治疗的基础上, 西医运用保肝降酶类药物、胰岛素增敏剂及他汀类药物等治疗. 中医采用辨病辨证相结合, 中药复方与单味药相结合的治疗原则, 达到既保护患者肝脏功能, 又调节血脂及肝脏脂肪代谢能力. 加用水飞蓟宾改善非酒精性脂肪性肝炎患者的肝功能效果明显.

关键词: 非酒精性脂肪性肝炎; 中西医; 肝功能

赵文霞. 如何改善非酒精性脂肪性肝炎患者的肝功能. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1461-1464

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1461.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种获得性代谢性应激相关的肝脏疾病. 国外研究显示NAFLD已成为慢性肝病及肝酶异常的首要病因, 普通成人该病的患病率达20%-33%, 其中10%-30%为非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH), 后者10年内肝硬化发生率15%-25%, 而脂肪性肝硬化患者发生原发性肝细胞癌、肝功能衰竭和移植肝复发的概率达30%-40%^[1]. NASH是造成肝硬化、原发性肝细胞癌、肝功能衰竭的关键所在, 因此改善NASH患者的肝功能非常重要. 要做到这一点, 需要明确该病的发病原因及机制, 祛除病因、阻断病理机制是真正改善肝功能的目标.

1 NASH的发病机制

多数学者认为, NASH发生的基础是二次打击假说. “第一次打击”是肝脏内游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)和三酰甘油(triglyceride, TG)的积聚, 胰岛素抵抗、瘦素(leptin)缺乏和脂肪代

■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)已成为国外慢性肝病及肝酶异常的首要病因, 普通成人患病率达20%-33%, 其中10%-30%为非酒精性脂肪性肝炎(NASH), 后者10年内肝硬化发生率15%-25%, NASH是造成肝硬化、原发性肝细胞癌、肝功能衰竭的关键所在, 因此改善NASH患者的肝功能非常重要, 已成为21世纪肝病领域的新挑战. 本文旨在探讨通过中西医治疗改善NASH患者的肝功能.

■同行评议者

徐列明, 教授, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝二科

■ 研究前沿

非酒精性脂肪性肝病包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎(NASH)、脂肪性肝硬化, NASH长期不能得到控制就可以造成肝纤维化、肝硬化, 其是脂肪性肝硬化发生的重要环节, 因此, NASH的治疗已成为研究领域的热点和重点, 也是亟待解决的问题. 中药在保肝降酶抑制炎症反应具有肯定的疗效, 故成为目前研究的热点之一.

谢失衡是脂肪肝形成的主要启动因素. 肝脏脂肪代谢的动态平衡被破坏, FFA被不断运送到肝脏, 血中胰岛素水平的提高又导致肝细胞内FFA的生成增加, 此时肝脏对FFA的 β 氧化能力、合成或分泌极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)的能力均下降, 最终造成肝脏脂肪代谢紊乱. 但此阶段, 脂肪酸氧化基因的表达仍在正常水平, 脂肪酸氧化所产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)低于诱发炎症所需的水平, 尚不足以损伤肝细胞, 故此时肝功能是正常的^[2].

当肝细胞内脂质过度堆积至一定程度, 就会出现“第二次打击”即氧化应激和脂质过氧化(LP). 由于脂质生成亢进或抗氧化机制破坏而于机体内发生的自由基和活性氧同蛋白、脂质及核酸等高分子相反应, 产生大量氧化代谢产物ROS, 诱发肝细胞膜的脂质过氧化, 同时伴有细胞因子、线粒体解偶联蛋白2(uncoupling protein2, UCP2)和Fas配体被诱导活化, 引起肝细胞的炎症反应及凋亡, 发展为NASH和肝功能异常. 总之, FFA代谢障碍、氧应激和脂质过氧化是肝功能异常的重要因素. 而有效纠正FFA代谢紊乱、阻止脂质过氧化反应有利于改善肝功能^[2].

2 中医对该病的认识

NAFLD是现代医学概念, 按其临床表现可归属为中医的“肝癖”、“胁痛”、“积聚”等疾病范畴. 其病因多为饮食不节、起居无常、情志失调、久病体虚等. 饮食不节, 过食肥甘, 损伤脾胃, 运化失职, 水湿内生, 湿聚成痰, 痰气交结; 湿郁化热, 湿热内壅, 痰热湿浊聚于体内, 发于胁下则为“肝癖”; 情志郁结, 或郁怒伤肝, 或思虑伤脾, 肝失疏泄, 气机阻滞, 横逆克脾; 或思虑伤脾, 致中焦失运, 湿浊不化, 痰浊与气血搏结; 或肝郁化火, 灼津为痰, 湿热痰浊留着肝脏而成本病. 病后失调, 久病及肾, 致阴伤气弱, 血行不畅, 血瘀气滞发为本病. 过度安逸, 少动不劳, 筋骨懈堕, 气血津液壅遏不行, 瘀阻于内; 或膏粱厚味损伤脾胃, 运化失职, 食湿浊气壅积不化, 留着为患^[3].

本病以痰湿内停、瘀阻气滞为主要病机, 属于痰湿、气滞、血瘀、食浊等因素交互作用而成. 病位主要在肝, 涉及脾、肾二脏, 病理性质属本虚标实. 本虚与脾失健运, 肝失疏泄有关, 标实为湿、热、痰、瘀互结于肝而致. 治疗以健脾利湿、化痰活血为主, 在强调痰湿瘀互结

治标之时, 更重视脾气亏虚以治本.

3 西医对NASH的治疗

3.1 非药物治疗 西医对NASH的治疗目前尚无特效药物, 最有效的方法是改变不良生活方式. 通过节食和运动等措施, 控制体质量增长和减少腰围, 治疗血脂紊乱、糖尿病, 减少FFA水平, 控制氧应激和脂质过氧化. 现有的饮食干预措施: 包括控制总的热量摄入(每日热量减少2 400 kJ), 膳食以不饱和脂肪酸为主, 并限制饱和脂肪酸的摄入, 碳水化合物以慢吸收的复合糖类和纤维素为主, 并限制摄入快吸收的碳水化合物(高糖指数). 运动治疗: 体育锻炼(有氧运动)对胰岛素抵抗和代谢综合征、肥胖症、血脂紊乱、糖尿病均有益处. 日本Ishibashi等对75例NASH患者, 采用饮食控制和运动进行减重治疗, 疗程平均266 d, 结果血清ALT、胰岛素抵抗指数及脂肪肝变程度均显著改善, 并可据ALT的变化趋势能预测肝内脂肪含量的改变^[4].

3.2 药物治疗 目前对NASH的药物治疗主要目的是减少脂肪的吸收, 增加脂肪的代谢, 增加对胰岛素的敏感性, 保护肝细胞, 改善肝功能. 常用保肝降酶药物、胰岛素增敏剂、抗氧化剂、降脂药物等. (1)保肝降酶的药物, 如水飞蓟宾(水林佳)、多烯磷脂酰胆碱、s-腺苷甲硫氨酸、甘草酸制剂、双环醇等, 其通过保护和稳定肝细胞, 影响膜结构, 使受损的肝功能和酶活力恢复正常, 调节肝脏的能量平衡, 促进肝组织再生, 具有抗炎免疫调节及降脂的作用, 使NASH患者症状、肝功能明显改善, 从而达到降低NASH患者ALT水平, 改善肝功能的作用. (2)胰岛素增敏剂包括二甲双胍(改善肝脏胰岛素抵抗)、噻唑烷二酮(改善外周胰岛素抵抗)以及 α -糖苷酶抑制剂(降低餐后血糖, 用之治疗NAFLD的研究相对较少). 临床实验显示二甲双胍可显著降低NAFLD患者血清ALT的水平. (3)抗氧化剂可减少脂肪吸收, 常用药物主要包括维生素E和(或)维生素C, s-腺苷甲硫氨酸、 β 甜菜碱, 普罗布考、静脉放血疗法以去除铁的不良影响; 针对肿瘤坏死因子- α 的抗炎药物以及益生元和益生菌等. 益生元和益生菌预防肠道细菌过度生长, 从而减少肠道内源性乙醇和内毒素的产生及相关肝脏氧应激和炎症损伤. (4)他汀类药物能增加脂肪代谢的药物中出现肝功能异常通常是一过性无症状性孤立性转氨酶增高, 并不代表存在他汀相关的显著肝脏损伤. 目前

■ 创新盘点

本文创新之处在于论述了NASH的中西医治疗方法和药物, 着重详述了中药的不同治法及保肝降酶方面的作用机制, 对指导临床运用中药治疗该病具有指导作用.

已有他汀类药物抗肝纤维化、抗HCC、降低门脉高压的报道. 为此他汀可安全用于NAFLD和NASH, 及其他慢性肝病患者血脂紊乱的长期治疗, 与保肝降酶药物联合应用更安全^[4].

4 中医对NASH的治疗

中医药治疗NASH, 改善肝功能具有一定的特色, 针对本病本虚标实、以标实为主的病机特点, 目前治疗多以祛湿化痰、活血化瘀、疏肝健脾为原则, 或选择辨证分型治疗, 或根据临床经验用中药复方加减治疗, 或结合现代药理研究以单味药治疗等, 内容丰富, 方法多样, 疗效明显.

4.1 辨病辨证治疗 辨证论治是中医治疗的特色之一, NASH患者临床主要出现肝功能异常, 症状表现为形体肥胖或腹胀便溏, 胁肋胀满, 舌质淡红, 苔白腻, 脉象弦细或细濡等. 根据临床所见辨病属于“肝癖”. 该病的病因病机为肝郁脾虚、湿痰瘀阻的特征. 辨证先要辨明是肝郁为主还是脾虚为主, 肝郁为主, 症状见肝区不适或胀满或疼痛, 治疗选用柴胡疏肝散加减治疗. 脾虚为主, 症状见容易疲劳、食欲减退、腹胀或便溏, 治疗以香砂六君子汤和参苓白术散加减治疗. 同时根据湿邪、痰浊、瘀血、气滞的轻重不同选方用药. 若湿邪过盛, 症见身体困重、形体肥胖、大便溏泄, 舌质淡胖, 舌苔白厚腻, 脉濡细, 治疗以胃苓汤加减, 常用药物有苍术、厚朴、陈皮、猪苓、茯苓、泽泻、山楂、生姜等. 若患者纳呆、恶心、咽部不适、咯痰量多、大便不爽、舌质淡红, 苔厚腻, 脉眩滑有力为痰浊阻滞, 治疗用二陈汤合保和丸加减, 常用药物陈皮、半夏、茯苓、莱菔子、胆南星、瓜蒌等. 胁痛明显, 甚则刺痛, 肝脏肿大拒按, 舌质紫暗, 苔薄白, 脉细涩, 为血瘀重证, 可用复元活血汤合失笑散加减, 常用药物丹参、柴胡、蒲黄、郁金、当归、穿山甲、大黄等. 若邪郁日久郁而化热, 出现头晕目眩, 舌红苔黄, 是肝胆郁热, 用夏枯草、决明子、生槐米、青黛等. 久病耗伤阴血, 症见失眠, 腰膝酸软, 劳累后肝区疼痛为肝阴不足, 方用滋水清肝饮酌加枸杞子、酸枣仁等, 常用药物当归、白芍、酸枣仁、山萸肉、茯苓、山药、柴胡、泽泻等^[3].

4.2 中药复方治疗 近年来由于NASH的发病率不断增加, 许多学者结合自己的临床经验, 在中医理论指导下, 自拟中药复方临床加减治疗NASH患者, 疗效得到很大提高. 但由于医生的体会不同, 用药的侧重点不同, 或者健脾化湿, 或者疏

肝理气, 也有活血化瘀或祛湿化痰等不同治法, 有单一治法为主, 更多是多法连用, 通过调理脏腑功能, 减少肠道对脂质的吸收, 降低血脂, 调整肝脏脂肪代谢, 抑制和减少肝脏炎症, 改善肝功能. 经临床研究报道, 运用疏肝解郁法, 药用柴胡、白芍、枳壳、香附、郁金、山楂、旱莲草、女贞子等治疗NASH患者52例, 1 mo后ALT、 γ -谷氨酰转氨酶(γ -GT), 均有明显下降, 降酶效果明显优于单用东宝肝泰、或硫普罗宁和肌苷、复方维生素B等药物^[5,6]. 运用清热利湿法治疗NASH报道很多, 常用药物以茵陈为主, 方药组成有茵陈、决明子、虎杖、泽泻、郁金、山楂、大黄等, 该类物质具有降低谷丙转氨酶和血脂, 改变超声后场衰减波等作用, 效果优于齐墩果酸片, 月见草油等对照药物^[7-9]. 化痰活血法也是临床用于治疗NASH的常用治法, 常用药物有半夏、陈皮、白芥子、郁金、丹参、山楂、赤芍、大黄等, 该类物质具有化痰利湿, 理气活血的功效, 在降低血脂, 保肝降酶方面作用优于多稀磷脂酰胆碱的对照组^[10,11]. 在此基础上我们对临床常用的中药复方进行了比较实验研究, 运用中药疏肝健脾方(柴胡、茯苓、决明子、姜黄), 化痰祛浊方(泽泻、莱菔子、大黄、荷叶)与东宝肝泰作对照. 结果显示: 在降低非酒精性脂肪肝大鼠模型肝匀浆FFA、TG、ALT等研究中, 中药两组均优于对照组, 改变大鼠模型病理变化、恢复线粒体嵴等方面中药组效果明显, 并且疏肝健脾组效果更优^[12,13]. 针对非酒精性脂肪肝复杂的病机, 中医复方和辨证论治使中医药治疗NASH患者肝功能异常的水平不断提高. 但是究竟哪个药物的作用效果更好? 是作用在哪个环节? 为了解决这些问题, 单味药的研究应运而生.

4.3 单味中药治疗 20世纪80年代, 在研究中草药抗高脂血症的作用时, 不少学者亦发现单味中草药具有良好的抗脂肪肝功效, 因高脂血症是NASH的重要发病因素. 也发现部分中药具有较好的保肝降酶作用. 如水飞蓟、五味子、山豆根、垂盆草、女贞子、甘草制剂等, 具有保护肝细胞, 抑制炎症反应, 降低转氨酶的作用. 女贞子^[14]的主要成分齐墩果酸对肝细胞有保护作用, 能显著降低谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性, 此外女贞子还有降血脂作用, 能明显降低胆固醇. 五味子^[15]含有菇类、粗多糖、有机酸等化学成分, 具有保肝降酶、抑制胆固醇生物合成等作用. 山豆根^[16]的主要有效成分是苦参碱, 有

■应用要点

以中医辨证论治与单味中药相结合为治疗理念, 运用辨证论治来改善患者的体质, 以治其本; 结合单味具有降酶作用的中药, 及相关研究机制, 达到保肝降酶改善肝功能的效果, 以治其标. 对临床运用中药治疗NASH具有改进作用, 特别是强调水飞蓟保肝降酶作用, 将使临床治疗效果有进一步提高, 并对预防复发具有重要作用.

同行评价

本文既有文献介绍,也有本身的研究结果,观点明确,学术价值较好。

抑瘤、抑菌、免疫调节、保肝降酶等作用。垂盆草^[17]除了护肝降酶作用外,还有抑制免疫反应、抑制血管紧张素转移酶等功效。研究表明:肝实质细胞表面存在甘草酸^[18]的结合位点,以甘草酸修饰壳聚糖纳米粒可通过甘草酸介导的方式促进合药载体的肝靶向输送,起到抗炎、抗病毒等作用,并明显减轻肝细胞脂肪变及坏死。然而这些降酶药物,对脂肪性肝炎,改善肝功能的作用均不及水飞蓟。因水飞蓟是菊科植物,性寒,味苦,入肺、肝经,具有清热解毒,保肝、利胆的作用。从水飞蓟种子提取物水飞蓟素、水飞蓟宾是两种抗氧化剂,能够减少自由基的产生,抑制脂质过氧化反应,具有抗纤维化的活性,对肝细胞膜有保护作用,并能通过阻断毒素与肝细胞膜上受体的结合而起到抗毒素作用。所以用于NASH患者,其疗效优于其他保肝降酶的药物。他们的主要区别在于水飞蓟素具有抗氧化作用,而其他药物保护肝细胞膜的功能,主要是通过抑制肝细胞炎症,调节免疫反应所达到的保肝降酶作用。王宝恩等^[19]应用含有水飞蓟素的水林佳治疗肝功能异常的NASH患者29例,并以护肝宁治疗25例作对照,结果显示:两组均能明显降低异常升高的转氨酶,具有较好的保肝降酶作用,水林佳组效果优于对照组。为了使降酶药物持续发挥良好的治疗作用,需配合具有降脂、化痰、活血作用的中药。如山楂、决明子、丹参、泽泻、赤芍等药物具有调脂、抗氧化应激、脂质过氧化的作用。山楂中提取的熊果酸和金丝桃苷对鼠高脂血症模型具有明显降低总胆固醇水平,增加高密度脂蛋白和SOD活性。临床应用山楂饮料能明显降低血脂,改善脂质代谢紊乱^[20]。泽泻降血脂的药物有效成分是乙醇提取浸膏的乙酸乙酯提取物,具有降低血脂的作用^[21]。赤芍具有良好的抗脂肪肝功效,降低瘦素水平和胰岛素抵抗指数^[22,23]。决明子正丁醇提取物能明显降低血脂,其作用优于其他部位提取物,其中总蒽醌类成分有显著的保肝降酶活性作用^[24,25]。

5 结论

以上三种治疗方法,临床结合应用,在辨病辨证的基础上,根据患者的体质、症状、舌苔、脉象、体征及相关检测指标等,选择不同中药复方,结合中药性味归经,功能主治及药理作用机制等现代研究,加减化裁方能取得更好的疗效。

同时也要改善饮食结构,加强科学的体育锻炼,彻底改变不良生活习惯,才能达到改善NASH患者的肝功能,进一步治愈NAFLD的远期目标。

6 参考文献

- Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 883-889
- 范建高, 曾民德. 脂肪性肝病. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 469-474
- 刘平. 现代中医肝病病学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 277-282
- 范建高, 贾继东. 脂肪性肝病诊疗进展. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 33-35
- 邓海清, 黄国荣, 吴瑞林, 潘朝霞. 祛瘀化浊、疏肝解郁法治疗脂肪肝52例. *陕西中医* 2006; 27: 24
- 李华甫. 柴胡疏肝散加减治疗脂肪肝85例. *河北中医* 2006; 28: 204
- 贾孟辉, 和晓春, 贺晓慧. 茵陈蒿汤加味治疗脂肪肝58例. *陕西中医* 2006; 27: 1524-1525
- 邹祥发, 陈福冈, 王福敏. 清肝汤治疗非酒精性脂肪肝30例. *陕西中医* 2008; 29: 20-21
- 严付红. 清肝降脂汤治疗非酒精性脂肪肝50例. *中国中西医结合消化杂志* 2006; 14: 60-61
- 潘金常. 化痰祛瘀通腑汤治疗脂肪肝98例. *浙江中西医结合杂志* 2003; 13: 593
- 张加军, 张广业. 散瘀化浊汤治疗非酒精性脂肪肝临床研究. *中华中医药学刊* 2007; 25: 176
- 赵文霞, 张永艳, 李建国, 叶放, 王伟. 化痰方、疏肝方对大鼠脂肪肝模型病理形态的影响. *中国实验方剂学杂志* 2004; 10: 60-63
- 赵文霞, 张永艳, 李建国, 叶放. 化痰祛浊方、疏肝健脾方抗大鼠脂肪肝模型作用机制的比较研究. *中国医药学报* 2004; 19: 121-122
- 李阳, 孙文基. 女贞子的药理作用研究. *陕西中医学院学报* 2006; 29: 58-60
- 张成俊. 中药五味子降血清丙氨酸氨基转移酶的效果与机制. *中国误诊学杂志* 2007; 7: 6190-6191
- 丁佩兰, 陈道峰. 中药山豆根及其制剂的药理作用、临床应用与不良反应. *中国临床药理学杂志* 2003; 12: 315-317
- 张洪超, 兰天, 张晓辉. 垂盆草化学成分与药理作用研究进展. *中成药* 2005; 27: 1201-1203
- 黄羽, 林爱华, 张娴, 巫志峰, 曾星. 甘草酸表面修饰壳聚糖纳米颗粒体外对肝实质细胞的靶向结合作用. *中药新药与临床药理* 2008; 19: 495-498
- 王宝恩, 谢贤春, 段钟平, 崔振宇, 王融冰, 辛绍杰, 朱跃科, 武志明, 刘芳, 赵军, 颜迎春, 陈红. 水飞蓟宾磷脂复合物治疗脂肪肝临床对照研究. *药品评价* 2007; 4: 68-70
- 路雪雅, 胡京红. 复方山楂冲剂对脂肪肝作用的实验研究. *中国医学研究与临床* 2007; 5: 1-3
- 钱文彬, 庞红, 薛大权, 席兰艳, 张海燕. 泽泻水提物、醇提物的制备及对小白鼠降脂作用的研究. *数理医药学杂志* 2007; 20: 836-838
- 赵文霞, 段荣章, 李建国, 张永艳, 苗明三. 赤芍防治大鼠非酒精性脂肪肝模型作用机制的实验研究. *中医研究* 2005; 18: 13-16
- 赵文霞, 段荣章, 苗明三, 李建国, 叶放. 赤芍对大鼠脂肪肝模型胰岛素抵抗及瘦素影响的实验研究. *四川中医* 2005; 23: 33-34
- 张加雄, 万丽, 胡轶娟, 屈巧玲, 师健友. 决明子降血脂有效部位的研究. *时珍国医国药* 2006; 17: 904-905
- 张荣, 刘必旺, 王永辉, 赵换, 周然. 决明子乙酸乙酯提取物对非酒精性脂肪肝大鼠的防治作用. *山西中医* 2009; 25: 45-47

病毒性肝炎伴发脂肪肝的中医药治疗

车念聪

车念聪, 首都医科大学中医药学院 北京市 100069
通讯作者: 车念聪, 教授, 硕士生导师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条10号, 首都医科大学中医药学院.
tmchenc@ccmu.edu.cn
电话: 010-83911623 传真: 010-83911627
收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-04-20
接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Treatment of viral hepatitis with fatty liver by Chinese medicine

Nian-Cong Che

Nian-Cong Che, School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China
Correspondence to: Professor Nian-Cong Che, School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China. tmchenc@ccmu.edu.cn
Received: 2009-12-31 Revised: 2010-04-20
Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

The purpose of this paper is to review the recent advances in research on viral hepatitis with fatty liver and explore the treatment of the disease by Chinese medicine. By analyzing the etiology and pathogenesis of fatty liver, we propose that "attenuating the liver and the spleen together and treating dampness, phlegm and blood stasis simultaneously" are the principle, addressing both symptoms and root causes and combined tonifying and reducing" are basic strategy, and "integrated Chinese and Western medicine therapy" is the future trend for the treatment of fatty liver by Chinese medicine. Treatment of fatty liver by Chinese medicine should strictly follow holistic view, individual view, physical view, causal view and dialectical view.

Key Words: Viral hepatitis; Fatty liver; Chinese medicine

Che NC. Treatment of viral hepatitis with fatty liver by Chinese medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1465-1468

摘要

分析病毒性肝炎伴发脂肪肝的研究现状, 探讨

中医药研究及治疗思路. 在分析基础上提出“肝脾同调、湿痰瘀同治为基本治则; 标本兼治、补泻结合为基本思路; 中西合治、联合用药为治疗趋势”. 中医治疗思路应严把整体观、个体观、体质观、因果观和辩证观的“五观”.

关键词: 病毒性肝炎; 脂肪肝; 中医药治疗

车念聪. 病毒性肝炎伴发脂肪肝的中医药治疗. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1465-1468

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1465.asp>

0 引言

病毒性肝炎伴发脂肪肝已是近年来众所关注的医疗问题. 在我国病毒性肝炎伴发脂肪肝多见于乙型、丙型病毒性肝炎慢性期或恢复期, 亦称此类脂肪肝为肝炎后脂肪肝. 这是伴随病毒性肝炎后出现的肝纤维化、肝脂肪化两大病理改变之一. 病毒性肝炎与脂肪肝作为独立的两种疾病, 其病因关系、发病机制、病理改变特征及中医药的治疗如何, 是近年来人们所普遍关注的问题. 本文就病毒性肝炎伴发脂肪肝的研究现状, 特别是中医药治疗研究进展及治疗思路进行探讨.

1 西医病理与临床研究概述

1.1 肝细胞受损是脂肪变直接因素 肝炎病毒对肝细胞的损害, 不仅导致细胞外基质的变化而成为纤维化, 同时肝细胞受损, 造成肝内脂肪分解氧化降低或脂肪合成增多, 而又不能有效地转运出肝细胞, 导致脂肪在肝细胞内堆积而形成脂肪肝, 这一病理改变又影响到肝细胞的正常功能. 刘彦英^[1]观察373例病毒性肝炎患者, 219例为高脂血症(占58.9%)72例肝穿证实有19例合并脂肪肝(发病率26%), 脂肪浸润度轻: 中: 重分别为14: 3: 2. 郭雁宾等^[2]对87例病毒性肝炎合并脂肪肝进行的病理与临床分析表明, 慢性肝炎合并脂肪肝占82.2%, 组织学特征为肝细胞除炎性改变外尚有脂肪变性, 脂肪变的肝细胞

■背景资料

在我国乙型、丙型病毒性肝炎伴发脂肪肝发病率在增高, 此类肝炎后脂肪肝的中医药的治疗现状及治疗思路如何是近年来人们所普遍关注的问题, 中医药治疗研究进展及治疗思路值得探讨.

■同行评议者

陈建杰, 主任医师, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

■ 研究前沿

在分析研究基础上提出“肝脾同调、湿痰瘀同治为基本治则；标本兼治、补泻结合为基本思路；中西合治、联合用药为治疗趋势”。中医治疗思路应在整体观、个体观、体质观、因果观和辨证观的“五观”指导下制定。

肿大,细胞内有大小不等的脂肪滴将细胞核推向一侧,脂肪变的肝细胞呈灶性或片状分布,且分布区域无明显规律.患者临床症状为全身不适、乏力、食欲不振、右季肋疼痛、腹胀、恶心、呕吐、腹泻等.

1.2 病毒侵害是脂肪变危险因素 李鹏翔等^[3]观察19例病毒性肝炎伴发脂肪肝患者的临床表现,主要可见体质量超标、乏力及消化系症状,如恶心、胃脘不适、腹胀、腹痛、肠鸣、排气、便溏等,还有肝区痛等表现.根据对脂肪肝形成的危险因素分析显示,有病毒性肝炎病史或现症慢性肝炎是脂肪肝的危险因素,乙型病毒性肝炎合并脂肪肝的发病率为28%,而丙型病毒性肝炎合并脂肪肝的发病率为40%,脂肪肝的发生与病毒基因型的特异性有关,其中基因3型丙型病毒性肝炎脂肪肝的发生率高(60%-90%)且程度严重^[4].

1.3 个体差异是脂肪变相关因素 病毒性肝炎合并脂肪肝与宿主因素相关,也与高龄、男性、种族有关.在丙型病毒性肝炎的进程中,肝脂肪变的严重程度与肝纤维化呈正相关.丙型病毒性肝炎合并脂肪肝的临床流行病学和病理学研究证实,丙型病毒性肝炎伴有肝脂肪变的可达82.39%(131/159),与患者性别相关,男性病理改变较女性重,女性以轻、中度为主,男性则以中、重度为主,病理1女性多小泡型,而男性以混合型为主.研究表明,病毒性肝炎伴发脂肪肝,丙型病毒性肝炎甚于乙型病毒性肝炎,病毒致病特点的不同伴发脂肪变亦不同;在宿主方面,脂肪变的发生及脂肪变的程度均与性别相关,年龄、性别、生活习惯、体质量指数及其他疾病均与肝脂肪变的发生相关^[5].

2 中医病因病机的分析

2.1 湿痰瘀互阻为脂肪变之本 中医对病毒性肝炎最早认识局限于“黄疸”、“胁痛”、“腹胀”、“瘟黄”等,也是中医认识论中对肝炎等肝胆疾病最直观的认识.随着科学技术的发展与进步,检测手段方法的日益丰富,病毒性肝炎按照病原学分为甲、乙、丙、戊、庚等不同类型.不同型别的病毒性肝炎其临床特点、病理变化等均有所差异,因而中医在病因、病机、病变规律的认识上也根据不同的病变特点进行了细化.综合学者的认识与观点看,其病位在肝脾肾,其病因是气血痰为患,气滞、血瘀、

痰阻是其病机之关键^[6].

2.2 肝脾肾同病为脂肪变之根 甲型病毒性肝炎以黄疸和胃肠道症状为主要表现,多为湿热疫毒导致发黄,而乙型病毒性肝炎则多由湿热疫毒所致,随病程、病理损伤和体质不同可致肝郁脾虚或肝肾阴虚,湿热羁留、邪正交争,甚则发展为胁下痞块、症瘕积聚^[7];丙型病毒性肝炎虽亦由湿热疫毒所致,但其直入气血,损伤正气,呈现出湿-虚-瘀的病理变化特点和致虚早的特征^[8].对于脂肪肝中医的认识多为“肥气”、“痞气”、“肝著”,究其病机痰瘀为本,无论脾虚、肝郁、肾虚,肝脾肾三脏失调而致痰瘀互阻是其病机之根本^[9].根据中医的分析认识,病毒性肝炎伴发脂肪肝的中医病因病机当为湿热疫邪导致人体肝脾肾功能失调,以致人体气血水运化失常,于是痰湿内蕴、气血停滞,从而形成“肝著”.

3 中医治则治法的提出

3.1 肝脾同调、湿痰瘀同治为基本治则 中医药治疗病毒性肝炎伴发脂肪肝治法治则的确立,其主要依据是根据患者的症状、体征以及舌、脉、证加以确立.苏经格根据肝炎湿热缠绵不清、湿伤脾阳而聚湿成痰,脂肪肝痰湿交阻、血脉不畅,湿、痰、瘀交织而致患者胁痛、腹胀、乏力、大便不爽等,认为治则为化痰利湿、调气活血,药用金钱草、茵陈、草决明、泽泻、郁金、山楂、丹参、红花、陈皮、茯苓、半夏、瓜蒌、生芪、黄精、柴胡等治之^[10].

3.2 标本兼治、补泻结合为基本思路 徐惠祥^[11]根据病毒性肝炎合并脂肪肝当属本虚而标实,虚、瘀、湿共存,患者肝区闷、胀、隐痛不适活动后加重,并伴乏力、纳差、腹胀、肝脾肿大,或见黄疸、蜘蛛痣等,因而治疗重在扶正、化痰、祛湿,采用益气活血法治疗,药用黄芪、丹参、赤芍、生山楂、泽泻、大黄等治之.祖武^[12]认为病毒性肝炎湿热阻遏中焦,肝气郁滞,蕴毒生痰,痰阻血络.而脂肪肝亦为湿热内聚、互结,气郁而血瘀,两者具有共同的病理基础,因此“异病同治”而采用化痰散结之法,用二陈汤、茵陈蒿汤、温胆汤、平胃散、鳖甲煎丸、桃红四物汤之属.

3.3 中西合治、联合用药为治疗趋势 近年来,中医治疗方面对治则、治法的确立,为认识的日趋一致奠定了基础,同时,中西药并用联合治疗的疗效也初露端倪.张波认为乙型肝炎合并

脂肪肝乃肝郁脾虚、痰湿阻滞、瘀血内生, 治当健脾化痰, 利湿活血, 用温胆汤加减并联合熊去氧胆酸^[13]. 莫冰泉等^[14]则从肝郁脾虚入手, 以舒肝健脾为法, 用柴芍六君汤联合硫普罗宁(凯西莱)治疗, 与单纯用西药相比, 总有效率有显著提高.

4 中医药治疗思路的几点思考

中医药治疗思路的确定源于临床、指导临床. 根据多年的研究及经典理论的复习, 我们认为应从中医认识论和方法论出发, 在分析病毒性肝炎伴发脂肪肝的病证、病因、病机的基础上, 提出治疗方案, 在方案确定前, 应充分注意到中医认识中的“五观”, 即整体观、个体观、体质观、因果观和辨证观.

4.1 整体观 病毒性肝炎伴发脂肪肝的中医药治疗, 离不开中医的整体观念, 应当在整体上去认识和把握该病的病因病机, 从调整脏腑功能这一“全局”入手, 以改变肝脏这一“局部”病变为最终目的, 处理好局部与整体的关系, 避免顾局部这一“此”而失全局这一“彼”, 站在整体的高度看问题, 不仅要解决患者局部的病—病毒性肝炎合并脂肪肝, 而且要顾及到患者“致病”或“病不治”的外在原因, 真正地做到“形”与“神”同治, “天”与“人”的合一.

4.2 个体观 就中医药治疗而言, 整体观指导下的个性化是中医“治人”的具体体现, 在病毒性肝炎伴发脂肪肝的病变中, 每一个体均具有特殊性, 除个体的生活习惯、生存环境与质量等, 不同的病变时期、不同的病损程度等均要求我们应从个体的特殊性出发, 制订有个性的治疗方案, 真正地针对病的人, 从而解决人的病.

4.3 体质观 中医体质学说的兴起与发展, 为临床辨证的个性化奠定了理论基础, 也为中医的同病异治做出了重要解释, 就病毒性肝炎伴发脂肪肝而言, 病毒侵害了不同体质的患者, 宿主体质会对病变类型、病变轻重、病变趋势产生重要影响, 体质是病变中十分重要的“内因”, 因而治疗中要根据患者体质、结合个体特征进行辨证.

4.4 因果观 肝炎病毒导致脂肪变的因果关系目前尚缺乏定论, 从病毒性肝炎伴发脂肪肝发病率看, 乙型肝炎伴发率在28%左右, 而丙型肝炎

伴发率可达40%, 而其中基因3型的丙型肝炎病毒导致脂肪肝可高达90%, 可以说明和有理由认为其因果关系较为明显. 而从中医理论层面分析, 这种因果关系的存在是必然的, 由病因“湿”致气郁、气滞, 进而导致痰浊内生或血络瘀滞, 因“湿”而致郁、瘀, 从而形成湿、痰、瘀互为因果的“怪圈”, 治疗则围绕痰湿和瘀血进行.

4.5 辨证观 辨证是中医治疗的核心所在, “证”是“治”的前提, 具体到本病而言, 在辨证上, 不仅要强调宏观辨证, 亦应结合微观进行辨证, 微观上要充分注意到病原学和病理学. 病原学当围绕不同的肝炎病毒所致中医病证特点进行辨证, 这一点在前期的大量研究探索中已逐步形成共识, 而病理学则主要围绕病毒损害肝细胞所致肝细胞的炎症、纤维化、脂肪化, 既解决“因”又针对“果”, 而这些方面的“微观辨证”与“宏观辨证”的结合有待进一步深入研究.

5 结论

以上我们对中医药治疗病毒性肝炎伴发脂肪肝的现状与辨治思路进行探讨, 目的旨在探索中医药治疗规律以更有效地指导临床. 概而言之, 中医认识本病的发病机制要点在肝脾肾三脏功能失调而致湿痰瘀互阻于肝, 因此, 要从中医的辨证思路出发, 调理肝脾肾三脏, 解决疾病中的湿痰瘀.

6 参考文献

- 1 刘彦英. 病毒性肝炎合并脂肪肝. 中国医刊 1984; 29: 590-591
- 2 郭雁宾, 茹海匀, 刘德恭, 范大焱, 孟欣, 曾均国. 病毒性肝炎合并脂肪肝的病理与临床-附87例分析. 天津医药 1988; 11: 666-669
- 3 李鹏翔, 孙克诚, 韩康铃. 19例病毒性肝炎脂肪肝患者临床表现、病理检查和8例患者的营养治疗. 中国医刊 1985; 30: 346-348
- 4 张建华, 张梅, 孙樱. 脂肪肝与慢性丙型肝炎. 胃肠病学 2009; 14: 114-117
- 5 李莉, 成军, 李梵, 王建军, 张健, 吴勤, 韩萍, 陈国凤, 纪冬, 李克. 慢性丙型肝炎脂肪肝变的临床与病理学特点. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1009-1013
- 6 车念聪. 非酒精性脂肪肝的中医证治研究. 中西医结合肝病杂志 2008; 18: 257-259
- 7 车念聪, 钱英. 从1056例乙肝治疗看中医辨证论治. 北京中医 1995; 14: 50-52
- 8 车念聪, 付修文, 高连印, 杜宇琼, 王融冰, 李秀惠. 北京地区慢性丙型肝炎中医证候学研究及辨证分型的初步调查. 北京中医 2002; 21: 301-303
- 9 胡智渊, 车念聪, 夏蓉, 袁梦. 胰岛素抵抗与非酒精性脂肪性肝病关系的实验研究. 首都医科大学学报 2009; 30: 218-221

■ 相关报道

北京中医院关幼波教授在最早提出“痰、瘀”是肝病的重要病理环节, 治疗中要“活血化痰”; 苏经格在此基础上报道了临床观察结果. 车念聪等作者对非酒精性脂肪肝进行了系统研究, 采取以方测法、以法测证的方法, 证明痰瘀是非酒精性脂肪肝的主要病机要素.

■同行评价

本文通过对病毒性肝炎伴发脂肪肝的中医病因病机深入分析,提出中医辨治思路,具有一定的新颖性。

- 10 苏经格. 化痰利湿, 调气活血法治疗32例肝炎后脂肪肝临床观察. 北京中医 1997; 16: 11-12
- 11 徐惠祥. 益气活血中药治疗病毒性肝炎合并脂肪肝52例. 中西医结合肝病杂志 1999; 9: 47-48
- 12 祖武. 化痰散结药在病毒性肝炎治疗中的应用. 中医杂志 2001; 42: 334-335
- 13 张波. 中西药合用治疗慢性乙型肝炎合并脂肪肝35例. 实用中医药杂志 2006; 22: 634
- 14 莫冰泉, 陈红梅. 舒肝健脾法治疗病毒性肝炎合并脂肪肝90例临床观察. 光明中医 2008; 23: 703

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2008 年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序

代码	期刊名称	总被引频次			影响因子		
		数值	学科排名	离均差率	数值	学科排名	离均差率
1170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	7	41	-0.99	0.043	41	-0.92
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	5432	1	3.71	0.792	6	0.52
G803	肝脏	586	25	-0.49	0.594	11	0.14
G938	国际呼吸杂志	645	22	-0.44	0.294	34	-0.43
G415	国际内分泌代谢杂志	663	20	-0.43	0.379	28	-0.27
G501	临床肝胆病杂志	582	27	-0.50	0.441	22	-0.15
G658	临床荟萃	1709	8	0.48	0.356	32	-0.32
G257	临床内科杂志	875	16	-0.24	0.412	24	-0.21
G855	临床消化病杂志	314	32	-0.73	0.294	34	-0.43
G261	临床心血管病杂志	836	17	-0.28	0.371	29	-0.29
G293	临床血液学杂志	408	31	-0.65	0.329	33	-0.37
G491	岭南心血管病杂志	161	39	-0.86	0.158	40	-0.70
G662	内科急危重症杂志	308	34	-0.73	0.279	36	-0.46
G523	内科理论与实践	34	40	-0.97	0.171	39	-0.67
G746	实用肝脏病杂志	312	33	-0.73	0.562	14	0.08
G190	世界华人消化杂志	2480	6	1.15	0.547	17	0.05
G800	胃肠病学	619	23	-0.46	0.621	10	0.19
G326	胃肠病学和肝病学杂志	580	28	-0.50	0.415	23	-0.20
G083	心肺血管病杂志	246	37	-0.79	0.361	31	-0.31
G419	心血管病学进展	585	26	-0.49	0.410	25	-0.21
G260	心脏杂志	553	29	-0.52	0.406	26	-0.22
G610	胰腺病学	268	35	-0.77	0.366	30	-0.30
G234	中国动脉硬化杂志	934	15	-0.19	0.557	16	0.07
G267	中国实用内科杂志	2309	7	1.00	0.487	20	-0.06
G211	中国糖尿病杂志	1567	11	0.36	0.570	13	0.10
G380	中国心血管杂志	256	36	-0.78	0.225	37	-0.57
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	657	21	-0.43	0.562	14	0.08
G633	中国血液净化	680	19	-0.41	0.546	18	0.05
G119	中国循环杂志	694	18	-0.40	0.406	26	-0.22
G231	中华肝脏病杂志	3283	4	1.84	1.119	2	1.15
G235	中华高血压杂志	1168	14	0.01	0.730	8	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	166	38	-0.86	0.207	38	-0.60
G876	中华老年心脑血管病杂志	588	24	-0.49	0.442	21	-0.15
G155	中华内分泌代谢杂志	1612	10	0.40	0.897	5	0.73
G156	中华内科杂志	3484	3	2.02	0.788	7	0.52
G161	中华肾脏病杂志	1643	9	0.42	1.068	3	1.05
G285	中华消化内镜杂志	1314	13	0.14	0.578	12	0.11
G168	中华消化杂志	2571	5	1.23	1.025	4	0.97
G892	中华心率失常学杂志	494	30	-0.57	0.657	9	0.26
G170	中华心血管病杂志	4186	2	2.63	1.375	1	1.64
G172	中华血液学杂志	1501	12	0.30	0.489	19	-0.06
	平均值	1154			0.520		

以上数据摘自2009年版《中国科技期刊引证报告》(核心版). 科学技术文献出版社, 177-178.

重视非酒精性脂肪性肝病胰岛素抵抗的防治

季光, 张莉

季光, 张莉, 上海中医药大学脾胃病研究所 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海市 200032
国家自然科学基金资助项目, No. 30873260
上海市优秀学科带头人计划基金资助项目, No. 09XD1403800
上海市教委重点学科基金资助项目, No. J50305
作者贡献分布: 文献检索、资料分析由张莉完成; 选题、写作、审校由季光完成。
通讯作者: 季光, 教授, 200032, 上海市宛平南路725号, 龙华医院脾胃病研究所. jiliver@vip.sina.com
电话: 021-64286261
收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-04-20
接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Prevention and treatment of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease

Guang Ji, Li Zhang

Guang Ji, Li Zhang, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China
Supported by: Natural Science Foundation of China, No. 30873260; the Program of Shanghai Subject Chief Scientist, No. 09XD1403800; and the Leading Academic Discipline Project of Shanghai Municipal Education Commission, No. J50305
Correspondence to: Professor Guang Ji, Institute of Digestive Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com
Received: 2009-12-31 Revised: 2010-04-20
Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

Insulin resistance is significantly associated with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and represents a key pathogenic parameter in the natural history of NAFLD. Insulin resistance not only participates in the progression of NAFLD but also affects the therapeutic effects of drugs against NAFLD by enhancing the sensitivity of hepatocytes to factors that can induce liver injury. Prevention and treatment of insulin resistance will enhance the therapeutic effects of drugs against NAFLD and improve the prognosis of the disease. Chinese medicine has displayed its characteristics and advantages in treating insulin resistance. Further exploration of the mechanisms responsible for the syndromes of insulin resistance and scientific evaluation of the effective prescriptions for insulin resistance

will be able to improve the prevention and treatment of NAFLD by Chinese medicine.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Insulin resistance; Chinese Medicine

Ji G, Zhang L. Prevention and treatment of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1469-1473

摘要

胰岛素抵抗广泛存在于非酒精性脂肪性肝病发生、发展的各个环节. 胰岛素抵抗的存在不仅影响非酒精性脂肪性肝病的进展, 还提高肝细胞对损肝因素的敏感性, 影响药物治疗的效果. 重视非酒精性脂肪性肝病胰岛素抵抗的诊治和治疗, 将有益于改善非酒精性脂肪性肝病的预后, 提高药物治疗效果. 中医药治疗胰岛素抵抗已经显示了一些特色和优势, 在加强患者科学管理, 重视生活方式干预的基础上, 开展对非酒精性脂肪性肝病胰岛素抵抗证候病机的研究, 加强对有效方药的科学评价并积极探索其作用机制, 将有助于提高中医药防治胰岛素抵抗的研究水平.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 胰岛素抵抗; 中医药

季光, 张莉. 重视非酒精性脂肪性肝病胰岛素抵抗的防治. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1469-1473
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1469.asp>

0 引言

越来越多的证据显示, 胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)是非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发生、发展的重要环节, IR甚至广泛存在于肝硬化、病毒性肝炎等其他慢性肝病中. 2008年欧洲肝脏研究学会(EASL)第43届年会特设“肝病中的胰岛素抵抗: 3型糖尿病”专题报告会, 研讨脂肪肝患者IR的机制、IR与糖在肝硬化中的作用以及肝硬化患者的胰岛素信号系统等问题. 这些内容进一步说明了IR在肝病中的重要地位, IR对疾病进展和治疗的影响不容忽视.

■背景资料

随着NAFLD研究的不断深入, IR在其发生、发展的重要作用逐渐明确, 重视胰岛素抵抗对控制疾病进展和治疗非常关键.

■同行评议者

王小众, 教授, 福建医科大学附属协和医院消化内科

■ 研发前沿

目前, IR是代谢性疾病研究的热点, 在对其研究中发现其不仅对NAFLD的发生发展相关, 还能影响其他慢性肝病的治疗. 中医药防治IR的研究才刚刚起步, 科学、规范的操作将成为IR中医药研究的主要任务.

1 NAFLD与IR

目前NAFLD的发病机制还不十分清楚, 主要认为与肥胖(尤其是腹型肥胖)、糖尿病、高脂血症有关^[1]. 有学者认为NAFLD是代谢综合征的肝脏表现^[2]. 虽然世界卫生组织和美国的代谢综合征定义中尚未包括脂肪肝, 但美国临床内分泌医生学会(AACE)已经将脂肪肝作为代谢综合征定义的主要条件之一^[3]. IR可能是脂肪肝形成的一个独立危险因素, 还独立与转氨酶呈正相关, 说明IR不仅导致脂肪在肝脏堆积, 而且还引起肝细胞炎症、坏死, 形成非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)甚至肝硬化^[4]. 其原理可能为IR引起肝脏脂质代谢异常和氧应激增加, 导致肝细胞损伤. Biddinger等^[5]研究发现, 在标准饮食下, 肝胰岛素受体敲除(liver-specific insulin receptor knockout, LIRKO)小鼠具有致动脉粥样硬化的脂蛋白特征: 高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-c)水平较低, 极低密度脂蛋白颗粒显著较多. 而经过12 wk高脂饮食后, LIRKO组100%出现高胆固醇血症(对照组为0), 并发生严重的动脉粥样硬化. 该研究提示代谢综合征并非仅仅是各种独立异常的组合, 而更像是一种真正的综合征, 且其中的糖脂代谢紊乱均源于胰岛素信号传导通路中的缺陷.

引起代谢综合征的IR可能是导致肝脂肪变性的关键因素. 有研究显示体质量、性别、基础代谢率(body mass index, BMI)、脂肪分布、葡萄糖耐量与NAFLD的关系不明显, 而IR是NAFLD最强的预测因子. 可能是因为IR可减弱和(或)破坏胰岛素对脂肪代谢的调节作用, 增加脂质溶解, 提高循环中游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)浓度, 促进肝脏对血FFA的摄取和肝细胞内甘油三酯(triglyceride, TG)合成, 减少TG从肝细胞内排出, 并抑制线粒体的脂肪酸氧化, 因此, 肝细胞内脂肪蓄积沉着, 肝细胞变性、肿大, 形成脂肪肝.

在NAFLD肝纤维化进程中, 内脂素与IR可能起重要作用, 内脂素水平的降低可加重IR^[6], IR可致血脂代谢紊乱, 加重肝脏脂肪沉积, 并进一步诱发对肝脏的“多重打击”, 引起细胞外基质的生成过多, 形成脂肪性肝纤维化甚至肝硬化. 内脂素可能抑制肝细胞脂肪酸合成酶的活性, 减少脂质产生, 减低脂肪的转运, 从而减少脂肪聚集.

脂肪代谢异常是IR的另一重要原因. 脂肪

组织可分泌多种蛋白激素如脂联素、抵抗素以及众多细胞因子(如肿瘤坏死因子- α 、白介素)、血管活性分子(如血管紧张素原、血浆酶原激活酶抑制因子-1、一氧化氮)、脂质成分(如FFA)、前列腺素等, 这些脂肪因子通过内分泌、旁分泌和自分泌途径参与维持机体众多生理功能, 包括调节胰岛素作用、能量平衡等, 来维护内环境的稳定, 这些因子与单个组织或全身IR有关. 脂肪细胞释放FFA水平升高, 可抑制肌肉摄取葡萄糖, 导致高胰岛素血症和IR已被证实.

近年来, 国内外学者对慢性肝炎合并糖尿病(diabetes mellitus, DM)和(或)脂肪肝患者进行了大量深入、细致的研究. 流行病学表明, HBV和HCV慢性感染患者的DM发病率显著高于普通人群, HCV感染与DM的关系比HBV感染更加密切. 流行病学和实验室数据提示HCV感染者易患NAFLD. 肝脏脂肪变性是慢性HCV感染者的一个重要的病理学特征. 因此病毒性肝病与NAFLD、DM常常同时存在, 关系复杂, 可能与IR有关.

在有关NAFLD的研究中发现, HCV患者伴发NAFLD与代谢综合征密切相关, 而且是肝纤维化进展的危险因素. 这些患者的肝纤维化进展与体质量、是否患糖尿病、是否存在肝细胞气球样变及其程度有关. 法国学者Maylin等^[7]进行的1项前瞻性研究表明, IR是HCV感染的一种特殊表现. 该研究共纳入500例慢性丙型肝炎患者和100例慢性乙肝患者. 研究结果显示, 462例非糖尿病HCV患者中, 32.4%有IR, 在这组人群中, IR与代谢综合征、明显肝纤维化、严重脂肪变性和年龄 ≥ 40 岁有关. 在145例没有代谢综合征或明显纤维化的HCV患者中, 15%存在IR, 后者与血清HCV RNA水平高和中重度肝脏坏死炎症有关. 此外还显示, HCV患者中IR(35%)发生率高于HBV患者(5%).

2 改善IR对NAFLD的治疗具有积极影响

Donthamsetty等^[8]证实患有脂肪肝的肝脏对肝毒素敏感性的显著提高. 用甲硫氨酸和胆碱饮食喂养雄性Srage-Dawley大鼠, 在第31天产生脂肪肝, 然后腹腔注射CCl₄ 2 mL/kg, 12-72 h大鼠的死亡率为70%, 而对照组则没有死亡. 研究证实, 过度表达的解耦联蛋白2无力补充三磷酸腺苷, 以及生长抑制因子P21导致G₁/S定相阻滞是提高脂肪肝肝细胞对有毒物品诱导的肝脏损伤

敏感性的主要机制。

IR是影响抗病毒疗效的重要因素之一,有研究认为抗病毒有效性与IR有关。Thomopoulos等^[9]在5年内分析了116例接受干扰素加利巴韦林治疗的肝硬化患者。治疗前肝脂肪变的检出率44.8%。在治疗前无肝脂肪变的64例患者中,42例获得持续病毒反应(sustained virological responders, SVR)(65.6%),而在有脂肪变的52例患者中仅20例获得SVR(38.4%)($P = 0.009$)。多因素分析显示,治疗前肝活检发现肝脂肪变是获得SVR的独立相关因素。肝脂肪变的存在妨碍肝硬化患者干扰素治疗SVR的获得。目前研究发现肝硬化患者中肝纤维化的类型(窦周和中央静脉纤维化)与NAFLD患者中的类型相似,因此肝硬化中脂肪变促进纤维化的机制可能也与NAFLD相似^[10]。肝脂肪变除了能促进肝纤维化的进展,还能促进肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生。已有学者在伴有脂肪肝的ob/ob大鼠中发现肝细胞增生,提示肝脏继发于脂肪变出现恶性改变^[11]。Ohata等^[12]研究了161例肝硬化患者,观察年龄、性别、BMI、饮酒、糖尿病、ALT、基因型、核心蛋白的水平、干扰素治疗、肝纤维化、炎症和肝脂肪变对HCC发生的影响。结果发现HCC的发生率在5、10、15年内分别为24%、51%和63%。

HCV感染患者伴有肝脏脂肪变性者抗病毒效果与IR关系比较复杂^[13]。研究发现基因1型患者的肝脏脂肪变性与IR有关并且影响抗病毒疗效;而在基因3型患者中,抗病毒治疗过程中持续病毒学应答后,其肝脏脂肪变性程度可以明显改善,病毒相关的肝脏脂肪变性可以消退,而宿主相关的肝脂肪变性未发生变化。因此有人主张在改善IR的基础上抗病毒治疗。还有研究显示,在聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗的基础上,同时应用他汀类降脂药物治疗可以提高抗病毒疗效,其机制是否因为改善了脂肪代谢,减少炎症因子释放,从而减轻IR,尚不清楚。对于慢性肝炎病毒感染患者合并肝脏脂肪变性时要注意分析主要是病毒感染导致的还是同时合并NAFLD,改善IR可能提高疗效。

2008 EASL专题研讨了改善IR对脂肪肝疗效的影响^[14],吡格列酮、熊去氧胆酸联合维生素E治疗1年均可以显著改善NASH患者的IR,同时血清ALT、AST水平下降,肝组织学提示肝脏脂肪变性和坏死炎症程度显著降低,但是延长治疗时间并不能带来额外益处,尽管胰岛素敏感

性持续改善,肝脏损伤程度则不能进一步改善。

总之,IR促进肝脂肪变的发生,而氧化应激或脂质过氧化损伤、瘦素抵抗等则可促进NAFLD的发展,伴随的心血管疾病和肝硬化为导致NAFLD患者死亡的主要原因。尽管有许多新药正处于临床试验中,但NASH治疗进展还是很有限,主要原因是目前对导致NAFLD患者肝脏损伤的机制仍不十分明确。无论如何,这些新的研究都或多或少给了我们一些新的启示。

3 中医药改善IR显示了一定的特色和优势

对包括NAFLD在内的代谢综合征相关疾病的IR的中医药防治,已经开展了一些探索,也显示了一定的应用前景。Zhang等^[15]研究发现,小檗碱可显著改善2型糖尿病合并血脂异常患者血糖、血脂及IR指标的水平,对代谢综合征可能具有治疗作用。该研究纳入初发2型糖尿病合并1项(或1项以上)血脂升高患者116例,所有患者未接受任何降糖或降脂药物治疗,在严格饮食控制和合理运动的基础上,按双盲随机原则被分至小檗碱治疗组和安慰剂对照组,观察3 mo。与治疗前相比,治疗组空腹血糖、口服糖耐量试验检测的餐后2 h血糖水平、糖化血红蛋白水平等均有明显下降。治疗组患者各参数水平均显著低于对照组($P < 0.0001$)。研究者认为,小檗碱显示的降糖效能已接近于目前临床常规应用的降糖药物。通过IR评估“金标准”-高胰岛素正葡萄糖钳夹技术检测显示,治疗组葡萄糖利用率比基线水平显著增加($P = 0.037$),但与对照组相比差异并不显著($P = 0.063$)。说明患者接受小檗碱治疗后,其体内IR状况得到了一定程度的改善。治疗组血清TG、TC及LDL-C水平也比基线时显著降低($P \leq 0.001$)。

国内肖凤英等^[16]观察了糖肝煎(由白芍、当归、柴胡、茯苓、茵陈组成)对2型糖尿病并脂肪肝实验性大鼠糖脂代谢相关指标及转氨酶的影响。小剂量链脲佐菌素(strep-tozocin, STZ)注射加高脂饲料喂养,建立2型DM并脂肪肝实验性大鼠模型,分别给予糖肝煎、文迪雅治疗,测空腹血糖、负荷后血糖、空腹胰岛素、负荷后胰岛素、TG、TC、HDL-c、LDL-c、FFA、脂蛋白脂酶、AST、ALT、总胆红素,稳态模型法计算HOMA-IR。证实糖肝煎能有效改善2型DM并脂肪肝模型实验性大鼠IR状态,并能降糖调脂,降低转氨酶,保护肝脏。

何春燕等^[17]在“聚证”学说指导下观察益气

■ 相关报道

长期以来,IR在代谢综合征的临床和实验研究中有大量报道,对其机制有了更深一步的认识。近期,在其他疾病合并IR的临床疗效评价的报道不断增多,IR的研究领域将不断扩展。

■创新盘点

本文对IR进行了全面的阐述,不仅对其发生原因、机制及后续效应有详尽的总结,对IR治疗提高NAFLD及其他慢性肝病合并IR的疗效有明确的比较,还为中医药防治和研究IR的未来指明了方向。

散聚方(由乌药、黄芪、黄连、泽泻、生蒲黄等组成)对中心性肥胖男性相关脂肪细胞因子水平的影响。30例健康志愿者为参照,将45例中心性肥胖患者随机分为中药组和安慰剂组,分别予益气散聚方和安慰剂治疗10 wk,观察治疗前后IR、相关脂肪细胞因子的水平。结果发现益气散聚方能显著改善患者IR,改善脂肪细胞因子水平,与安慰剂组相比有统计学差异。

4 对提高中医药防治IR疗效的一些意见

4.1 加强对患者的科学管理 治疗前评估以确立NAFLD、肝硬化或病毒性肝炎的诊断,了解疾病程度,判断是否存在IR和其他代谢综合征的组成疾病;建立良好的医患关系,进行长期、系统和个体化的治疗;积极治疗原发基础疾病,避免其他肝损害因素,尤其是酒精和药物性损害;建立电子化患者信息管理系统,规范信息采集、存储条件;加强治疗过程监测,通过临床观察、影像学、实验室(肝组织学)检查评估干预措施的疗效和安全性。动态观察不能仅限于肝脏病变,还需对相关代谢危险因素、肿瘤发生和心脑血管事件进行监测。

4.2 重视生活方式的干预 生活方式的干预包括行为纠正、饮食调整和运动。这些非药物性基础治疗可改善NAFLD病变及其伴同的退行性和代谢性损害,为药物干预创造条件并提高其疗效,还可提高生活质量和费用成本效应。欧洲观察以适当增加饮食中蔬菜、水果、坚果和橄榄油,控制饮酒(男<20 g/d,女<6 g/d),戒烟及运动(200 min/wk, 30 min/d)为主要特点的地中海式生活方式,可使长期遵循的70-90岁老年人的全因死亡率及个因死亡率下降50%以上^[8]。生活方式干预中,可给患者实施简单可行的个体化心理治疗,并鼓励其建立自我验证的措施,长期饮食和运动相结合才能获得较好结果。

4.3 合理使用胰岛素增敏剂 包括噻唑烷二酮类(thiazolidinediones, TZDs)和二甲双胍类药物,可改善NAFLD伴糖尿病或糖耐量损害者的IR、降低促炎因子活性并提高抗炎因子、促进FAA氧化、降低蛋白尿。现有研究表明,胰岛素增敏剂有助于NAFLD患者血清ALT水平复常,部分患者组织学有不同程度改善。但目前普遍关注几个问题,即对NAFLD的适用对象、治疗剂量和期限、联合用药、缺乏满意的组织学评估,尤其是对肝纤维化的影响、存在不良反应时的风险及效应比。TZDs有较好的抗糖尿病疗效,但

其可引起体质量增加和脂肪移位再分布、心血管事件风险增大及肝毒性等不良反应,确切疗效尚需进一步观察^[9]。

4.4 开展对慢性肝病胰岛素抵抗证候病机的研究 IR作为代谢综合征共有的病理基础,在代谢综合征的不同组成部分,在NAFLD、肝硬化、病毒性肝炎的不同阶段,有其作为主要病理环节的共性特点,也具有在不同疾病、不同疾病阶段的不同表现形式,这种基本规律和个性特点并存的现象与疾病中医证候研究的基本思路十分接近。在规范信息采集手段的基础上,加强对不同疾病及疾病不同阶段IR患者证候病机规律的研究,建立IR患者的基本证候及其判别模式,揭示IR患者主要证候病机的演变规律,是构建IR治疗中医理、法、方、药体系的基础性工作,应予以重视并尽快完善。

4.5 加强对有效方药的科学评价和深入的机制研究 中医药防治IR的研究起步不久,有限的研究报告了一些单体成分如小檗碱、白藜芦醇,一些复方中药如黄连解毒汤、桃核承气汤、益气散聚方对IR的疗效和作用环节,为深入研究中医药防治IR奠定了基础。从临床证据出发,在对IR患者科学管理和行为干预的基础上,开展对有效方药(单方、单体成分)长疗程、个体化的干预和效果评价,贯彻“有所为,有所不为”的工作原则,开展以社区为单元的综合整体干预研究,体现中医药“治未病”的防病思想,充分发挥中医药在IR防治中的优势和特色。同时,坚持发扬中医药多层次、多途径、多靶点的治疗特点,和特别适合治疗IR这种多系统损害的疾病的优势,针对产生IR的分子机制,开展深入的机制研究,提升中医药防治IR的研究水平,提高中医药对现代生活方式病的防治能力,更好地为经济建设和社会发展服务。

5 结论

IR不仅影响NAFLD的发生、进展以及预后,在其他慢性肝病同时合并NAFLD时,IR的存在还能影响药物治疗的效果。重视NAFLD合并IR的诊断和治疗,能有效的指导慢性肝病用药,提高临床疗效。中医药能有效改善IR,但其作用机制还不完全明确。对NAFLD证候病机及有效方药科学、系统的研究将有助于提高中医药防治IR的研究水平。

6 参考文献

- 1 Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J*

- Med* 2002; 346: 1221-1231
- 2 Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 3-20
 - 3 Bloomgarden ZT. American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) consensus conference on the insulin resistance syndrome: 25-26 August 2002, Washington, DC. *Diabetes Care* 2003; 26: 933-939
 - 4 Donati G, Stagni B, Piscaglia F, Venturoli N, Morselli-Labate AM, Rasciti L, Bolondi L. Increased prevalence of fatty liver in arterial hypertensive patients with normal liver enzymes: role of insulin resistance. *Gut* 2004; 53: 1020-1023
 - 5 Biddinger SB, Hernandez-Ono A, Rask-Madsen C, Haas JT, Alemán JO, Suzuki R, Scapa EF, Agarwal C, Carey MC, Stephanopoulos G, Cohen DE, King GL, Ginsberg HN, Kahn CR. Hepatic insulin resistance is sufficient to produce dyslipidemia and susceptibility to atherosclerosis. *Cell Metab* 2008; 7: 125-134
 - 6 Wada J. Vaspin: a novel serpin with insulin-sensitizing effects. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; 17: 327-333
 - 7 Maylin S, Martinot-Peignoux M, Moucari R, Boyer N, Ripault MP, Cazals-Hatem D, Giuily N, Castelnau C, Cardoso AC, Asselah T, Féray C, Nicolas-Chanoine MH, Bedossa P, Marcellin P. Eradication of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2008; 135: 821-829
 - 8 Donthamsetty S, Bhave VS, Mitra MS, Latendresse JR, Mehendale HM. Nonalcoholic fatty liver sensitizes rats to carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Hepatology* 2007; 45: 391-403
 - 9 Thomopoulos KC, Theocharis GJ, Tsamantas AC, Siagris D, Dimitropoulou D, Gogos CA, Labropoulou-Karatza C. Liver steatosis is an independent risk factor for treatment failure in patients with chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 149-153
 - 10 Fernández-Rodríguez CM, Gutiérrez ML, Serrano PL, Lledó JL, Santander C, Fernández TP, Tomás E, Cacho G, Nevado M, Casas ML. Factors influencing the rate of fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1971-1976
 - 11 Wyatt J, Baker H, Prasad P, Gong YY, Millson C. Steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Pathol* 2004; 57: 402-406
 - 12 Ohata K, Hamasaki K, Toriyama K, Matsumoto K, Saeki A, Yanagi K, Abiru S, Nakagawa Y, Shigeno M, Miyazoe S, Ichikawa T, Ishikawa H, Nakao K, Eguchi K. Hepatic steatosis is a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Cancer* 2003; 97: 3036-3043
 - 13 Lonardo A, Adinolfi LE, Petta S, Craxì A, Loria P. Hepatitis C and diabetes: the inevitable coincidence? *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009; 7: 293-308
 - 14 范建高. 2008年脂肪性肝病研究进展. *中华肝脏病杂志* 2009; 17: 85-87
 - 15 Zhang Y, Li X, Zou D, Liu W, Yang J, Zhu N, Huo L, Wang M, Hong J, Wu P, Ren G, Ning G. Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 2559-2565
 - 16 肖凤英, 胡爱明, 郑云, 王建华. 糖肝煎对糖尿病性脂肪肝模型大鼠糖脂代谢及转氨酶的影响. *中国老年医学杂志* 2007; 27: 1560-1562
 - 17 何春燕, 傅晓东, 李玢, 何燕铭, 陈伟华, 应健, 王文健. 益气散聚方对中心性肥胖男性相关脂肪细胞因子水平的影响. *上海中医药杂志* 2007; 41: 16-18
 - 18 Knuops KT, de Groot LC, Kromhout D, Perrin AE, Moreiras-Varela O, Menotti A, van Staveren WA. Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA* 2004; 292: 1433-1439
 - 19 McCullough AJ. Thiazolidinediones for nonalcoholic steatohepatitis--promising but not ready for prime time. *N Engl J Med* 2006; 355: 2361-2363

■同行评价

本文对胰岛素抵抗在非酒精性脂肪肝病发病中的作用及其致病机制进行了分析, 对中医药改善胰岛素抵抗的可能作用进行了阐述, 并对今后中医药治疗的研究方向提出了建议。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

非酒精性脂肪性肝病的疗效评价

李军祥, 陈润花, 余轶群

■背景资料

目前, 中西医治疗NAFLD的方法较多, 疗效评价标准不一, 为了今后的临床研究, 有必要统一疗效评价标准, 本文对现有的临床疗效评价加以总结, 并指出优劣。

李军祥, 陈润花, 余轶群, 北京中医药大学东方医院消化内科北京市100078
国家“十一五”科技支撑计划基金资助项目, No. 2007BAI20B096

通讯作者: 李军祥, 教授, 100078, 北京市, 北京中医药大学东方医院消化内科. lijx970508@sohu.com

收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-04-21

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Therapeutic evaluation in patients with nonalcoholic fatty liver disease

Jun-Xiang Li, Run-Hua Chen, Yi-Qun Yu

Jun-Xiang Li, Run-Hua Chen, Yi-Qun Yu, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

Supported by: the National Key Technology R&D Program during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2007BAI20B096

Correspondence to: Professor Jun-Xiang Li, Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China lijx970508@sohu.com

Received: 2009-12-31 Revised: 2010-04-21

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

At present, the system for therapeutic evaluation of both Western and Chinese medicine (CM) in patients with nonalcoholic fatty liver diseases (NAFLD) are imperfect. A systematic review of the currently used system for therapeutic evaluation of CM for NAFLD reveals many problems. First, the current evaluation system cannot be completely implemented. Too much emphasis is put on objective indicators, and subjective indicators are often neglected. Second, control drugs are not strictly selected and therefore have poor comparability. Third, the syndromes between treatment and control groups are not uniform in clinical control studies and have poor comparability. To improve such situation, the current therapeutic evaluation system should be strictly implemented, and a PRO scale for NAFLD with characteristics of CM should be developed.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver disease; Therapeutic evaluation; PRO scale

Li JX, Chen RH, Yu YQ. Therapeutic evaluation in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1474-1477

摘要

目前, 对于非酒精性脂肪性肝病有中西医两种治疗方法, 但这两种治疗方法的疗效评价体系均不够完善. 系统回顾目前的中医疗效评价, 可以发现主要存在以下问题: 第一, 对于现有的评价体系未能积极完整地实施, 过于强调客观指标, 忽略了主观指标, 并且人为地舍弃部分样本; 第二, 对照药物选择比较随意, 可比性较差; 第三, 中医临床对照研究中, 治疗组和对照组证型不统一, 可比性较差. 为进一步完善疗效评价, 建议严格执行现有的疗效评价方案, 并研制具有中医特色的非酒精性脂肪性肝病的PRO量表。

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 疗效评价; PRO量表

李军祥, 陈润花, 余轶群. 非酒精性脂肪性肝病的疗效评价. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1474-1477

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1474.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD), 包括单纯性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver, NAFL)以及由其演变的脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化. 目前, NAFLD已成为临床常见病、多发病, 严重危害人民的身心健康和生活质量. 近年来, 中西医进行了大量的临床研究以有效防治NAFLD, 并且取得了一定成果. 随着循证医学的崛起, 医学界越来越关注临床治疗方案的实际效果, 即对临床疗效进行评价. 因此, 对NAFLD的临床治疗效果进行评价的重要性和必要性也随之突显。

1 NAFLD的西医临床疗效评价

2006-02中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定了《非酒精脂肪性肝病诊疗指南》. 该指南中提供了与诊断标准相对应的

■同行评议者

管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验中医教研室

“治疗的监测”,也就是疗效评价方案.但是,从文献报道来看,临床实际应用时,对NAFLD临床疗效的评价并未严格执行该指南的方案.现在临床习用的疗效评价方案是设立对照组,通过检测各组的实验室指标, B超或CT,并对检测结果进行统计分析以判断治疗方案是否有效.所检测的实验室指标主要包括血脂和肝功能.也就是说现在习用的评价方案中较少涉及临床症状、体征等主观性指标,而以客观性较强的实验室指标及影像学检查为主.虽然有学者^[1,2]对脂肪肝患者进行健康教育,并对其结果进行了疗效评价,其中涉及到患者的饮食、运动、睡眠等内容.但这些评价在现行评价方案中所占的比例很小.

就上述评价方案而言,需要我们注意及思考的有以下几个问题.(1)2006年发布的指南中明确指出需要对患者的饮食、运动、睡眠、体质质量以及与生活质量相关的内容进行评估,还要对患者的原发疾病和肝病相关的临床症状和体征进行评估.与实验室指标和影像学改变相比,上述的饮食、运动等评估内容中,虽然有的属于客观指标,但多数属于主观性指标.也就是说,现在习用的评价方案中只涉及到部分客观指标,而没有或是很少涉及到主观指标.由于评价方案不完善,由现行评价方案所得出结论的可靠性,尤其是所用治疗方案对患者的长期疗效就值得思考.(2)从定义可知,NAFLD是从病理改变的角度来命名的疾病,而且在临床实际中,很多NAFLD患者没有肝功能改变或血脂异常,而只有B超、CT等影像学改变和肝脏组织活检的病理改变.那么,一方面,在运用含有实验室指标的评价方案进行疗效评价时,而有些NAFLD患者没有血脂及肝功能异常的表现.如此一来,在选择样本时,必然意味着人为地舍弃掉部分样本,那么所得出结论的可靠性及适用范围就值得思考.另一方面, B超检测具有一定的主观性,而CT、肝脏活检的准确性相对较高,但限于设备、技术以及经济等因素,并非所有的患者能够接受CT和肝脏活检.所以,临床应用最多的仍然是B超.由于观测指标的准确性偏低,必然导致评价结果的准确性偏低.(3)临床常用的治疗方法,尤其是药物治疗中,每种治疗方案所起作用的机制不同,而且NAFLD也是由多因素导致的疾病.那么在进行对照组设计时,以作用机制不同的治疗方案作为对照组,其结果的可靠性是一个值得思考的问题.

2 NAFLD的中医药临床疗效评价

中医药在数千年的发展中,已逐渐形成了一套比较系统,而且独特的临床疗效评价体系.中医药传统的疗效评价体系以四诊信息为参考依据,在很大程度上依赖于医者个人经验的判断.随着中西医结合的发展,越来越多的中医药学者借鉴西医的评价标准,开始注重微观评价,强调各种客观指标的应用.2006年,中华中医药学会脾胃病分会制定了《中医消化病诊疗指南》,其中有关于NAFLD的诊疗指南.指南制定了对NAFLD治疗效果的评价方案.方案将临床症状、体征、影像学、血脂、肝功能等各项指标分为痊愈、显效、有效、无效4级.同时也将证候疗效分为4级.

另外,2002年出版的《中药新药临床研究指导原则》中有《中药新药临床实验的证候及其疗效评价》和《中医证候的临床研究指导原则》两部分内容.此内容对临床研究中常见的中医证型所包含的主要症状和次要症状作了论述,并分为轻、中、重3级.所以,有学者在对中医药治疗NAFLD的疗效进行评价时,参照《中药新药临床研究指导原则》的相关内容设定评价方案.就现行的NAFLD的中医药疗效评价方案而言,需要我们注意和思考的有以下几个问题.(1)现在,越来越多的学者在研究中,通过设立对照组来对所研究方案的疗效进行评价,但仍有部分学者没有设立对照组.在设立对照组的研究中,对照组治疗方案的选择有西药和中药之分.就西药对照组而言,由于西药与中药的治疗机制不完全相同,那么能否以西药的治疗方案作为对照组?如果可以,那疗效评价结论的适用范围有没有特殊的限定?这些问题都需要进一步研究.以中药治疗作为对照组的多选用中成药,如脂必妥、血脂康、护肝片等,也有部分学者以中成药加西药作为对照组.从治疗适应证来看,治疗NAFLD的中成药有辨病论治和辨证论治之分.前者可适应于各种证型的NAFLD,如血脂康、益肝灵等;后者则适应于特定证型的NAFLD,如血脂宁、血脂灵、清肝利胆口服液等.相比之下,治疗组的情况就比较复杂,有辨病论治;有辨证论治;还有辨病论治为主,辨证加减等.治疗组和对照组具有可比性,是随机对照研究的前提和原则之一.如果两者没有可比性,或是可比性较差,那么进行对照研究的意义就值得思考和怀疑.从文献报道来看,通过随机对照来评价中药治疗NAFLD疗效

■研发前沿

目前,NAFLD中医药研究所面临的重要问题以及亟待解决的问题主要有两个:其一,对现有治疗方案的确切疗效进行系统评价;其二,规范完善实验研究,为进一步筛选有效方药打好基础.

■相关报道

孙秀侠等及王卫红等对脂肪肝患者应用健康干预方式后进行了效果评价,但对临床药物治疗NAFLD的疗效评价,目前尚缺乏.

■创新盘点

本文的创新之处在于系统回顾了有关治疗NAFLD的文献报道,对研究工作中所存在的问题以及研究方法的上缺陷进行总结,并尽量提供了相应的解决方案,如现在习用的评价方案中较少涉及临床症状、体征等主观性指标,而以客观性较强的实验室指标及影像学检查为主。提出了研制具有中医特色的NAFLD的PRO量表,对本病的疗效评价有借鉴意义。

的研究中存在以下问题:有学者在研究中,以辨病论治的中成药,如血脂康作为对照组,而治疗组则采用了辨证论治的方药。由于辨病论治中成药与辨证论治方药的适用范围不同,于是出现以特殊与普遍进行对比的情况。辨病论治的中成药在研制中往往借鉴了中药药理学的认识,如果与辨证论治方药进行对照,这将导致对照组药物与治疗组药物治疗机制上存在较大差异。在有的研究中,治疗组和对照组的治疗方案均为辨证论治。比如对于肝郁脾虚型的NAFLD,以中成药逍遥散作为对照组,而以自拟的疏肝健脾方药作为治疗组。由于治疗组的方药存在加减变化,针对性更强。其对照结果只能说明辨证加减方药的治疗效果优于不加减变化的中成药,并没有达到对自拟疏肝健脾方药的疗效进行评估的目的。可见,即使是设立了随机双盲对照,由于对照组设定的选择,使得NAFLD治疗方案的疗效很难精确评价。即使进行了评价,其评价的结果的可靠性也值得思考。另外,就现有的文献报道来看,样本量多为数十例、一百多例,数百例或是上千例的样本量很少见。而样本量偏小,也在一定程度上影响着评价结果的准确性和可靠性。(2)目前,辨证论治是常用的治疗NAFLD的方法。相对于“个案”而言,通过规范临床证型,制定相对固定的治疗方案,更有利于临床疗效的评价。因此,对NAFLD的临床证型进行规范是进行疗效评价的前提。2006年,笔者在参与制定《中医治疗消化病诊疗指南》时,曾对NAFLD的常见临床证型进行了规范。其后,笔者的研究生对NAFLD的临床证型作了进一步研究。研究表明,直到目前为止,学术界仍然没有对NAFLD提出统一的临床证型,而且NAFLD在临床上很少表现为单一证型,多表现为数个单一证型复合的复杂证型。这些因素都使得中医药治疗NAFLD的方案具有很大的随意性。这种随意性使得对这些治疗方案很难进行准确、细致的评价。(3)前文已提及,很多NAFLD患者,尤其是青壮年患者,往往没有明显或是典型的临床表现。对于这类人群,很难应用辨证论治进行治疗,只能采取辨病论治进行治疗。采取辨病论治的前提是中医药从病的层面对NAFLD进行准确的界定,但直至目前为止,学术界仍然没有统一的认识。由于认识不统一,再加上学者本人经验的差异,这就导致制定出治疗NAFLD的方案具有很大的不确定性。在这种情况下,只是简单的随机双盲对照,恐怕很难对治疗方案的疗效

进行明确、细致的评价。

3 NAFLD临床疗效评价中的主观问题

不论是西医还是中医药,对NAFLD治疗方案进行疗效评价时,都存在选择指标的问题。而指标有主观和客观之分,这就涉及到一个对主客观进行选择的问题。《非酒精脂肪性肝病诊疗指南》和《中医消化病诊疗指南》在所制定的疗效评价方案中都包含了主观指标和客观指标。尤其是《中医消化病诊疗指南》明确提出了“证候疗效标准”,将临床证候分为痊愈、显效、有效、无效4级,采用积分方式进行评价。但是,从临床实际应用情况来看,现在习用的疗效评价多数并未执行两个指南的方案。

近年来,随着循证医学的崛起,学术界越来越重视主观指标的应用,因而提出了临床疗效评价应重视“患者报告的临床结局(patient report outcome, PRO)”。所谓的PRO,就是一种直接来自于患者(即没有医生或其他任何人对于患者反应的解释)的对于患者健康状况的各个方面的测量^[3]。众所周知,NAFLD与肥胖、糖尿病等代谢紊乱性疾病有密切关系,饮食结构与饮食习惯的变化,以及运动、起居作息等生活习惯的改变均是NAFLD的发病原因。对上述因素进行调整,是NAFLD的主要治疗方法之一。即使在治疗NAFLD时,采取其他治疗手段,如药物治疗,但上述因素的改变对治疗结果有着不可忽视的影响。因此,在对治疗NAFLD方案进行疗效评价时,必须重视对主观指标的评估。现在,PRO已经应用中风、癌症等多种慢性疾病治疗方案的疗效评价中,但就NAFLD而言,尚未见有应用PRO进行评价的报道。所以,建议在今后的研究工作中,借鉴PRO的相关理念,完善NAFLD的临床疗效评价。

此外,在疗效评价中,观测数据的处理往往要借助统计学方法。由于统计学方法有多种,而且每种统计学方法应用时需要满足的条件也不同。因此,在进行疗效评价时,即使研究设计再合理,如果统计方法选择错误,其评价的结果也未必准确。有学者^[4]对生物医药类期刊中统计学方法的应用再了分析,发现统计方法应用的错误达到80%。面对如此高的错误率,我们不得不对现有治疗NAFLD方案的评价结果进行反思。

4 结论

中医药治疗本病可以明显改善患者的生活质量,

目前国内采用汉化版SF-36健康调查量表进行评价较普遍, 但缺乏中医特色. 在慢性病领域, 从患者报告结局指标的角度入手, 以量表作为工具来评价中医临床疗效, 已经逐渐被认可. 借鉴量表的制作原则和方法, 研制具有中医特色的NAFLD的PRO量表, 对本病的疗效评价有借鉴意义. 由于药物疗效与服药疗程密切相关, 因而会影响药物的疗效评价. 而目前的研究中, 药物服用时间长短不一, 有1、2、3 mo, 甚至更长, 从而导致药物的疗效评价不够精确. 此外, 对同一药物不同疗程的药效进行比较的研究鲜有报道. 因此, 笔者建议统一的疗程应为6 mo, 对同一药物进行不同疗程的药效比较研究, 以进一步明确该药物的临床疗效. 严格执行相关诊断标准, 建立统一的疗效评价标准, 规范其干预过程, 并

进行严格质量控制, 保证肝脏CT、肝脏B超诊断的准确性和规范性. 建立以CT(肝脏/脾脏的CT值)和肝脏酶学(ALT)作为主要疗效指标, 结合主、次要症状积分、血脂、肝功能、体质量指数和PRO量表等具有中医特色的NAFLD的诊断和疗效评价方法.

■同行评价

本文言之有据, 符合临床实际, 明确地指出了目前临床的实际问题, 也初步提出解决问题的思路与方法, 具有较强的临床指导意义与较好的学术价值.

5 参考文献

- 1 孙秀侠, 褚衍友, 郑昌炼, 党同云, 孙晋英. 脂肪肝患者健康干预方式及效果评价. 中国健康教育 2005; 21: 529-531
- 2 王卫红, 崔海英. 脂肪肝患者的健康教育及效果评价. 齐鲁护理杂志 2006; 12: 1942
- 3 FDA. Guidance for industry: patient-reported outcome measures: use in medical product development to support labeling claims: draft guidance. *Health Qual Life Outcomes* 2006; 4: 79
- 4 胡良平. 临床科研工作者呼唤正确的统计学思想. 基础医学与临床 2007; 27: 228-232

编辑 李军亮 电编 吴鹏联

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2009年《世界华人消化杂志》编委审稿总结

本刊讯 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology, WCJD*)编辑委员会共计400人, 全部为副教授及副主任医师以上. *WCJD*编委会审稿费结算工作于次年01-05开始. 本次统计为2008-01-01/2009-12-31编委审稿费用, 共计40 850元, 数据以稿件审回日期为准. *WCJD*共计审稿1 418篇, 其中送审专家377位, 共计送审次数2 094次, 成功审回次数1 634, 成功率78.03%. 其中审稿次数排前三位的为: 西安交通大学医学院第二附属医院感染科党双锁教授和福建医科大学附属协和医院消化内科王小众教授并列第一位, 各17篇; 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心曹秀峰教授第二位, 16篇; 中国医科大学附属第一医院消化内科王炳元教授和苏州大学附属第一医院消化科陈卫昌教授并列第三位, 各15篇.

*WCJD*编辑部感谢各位编委2009年对*WCJD*工作的支持, 同时希望各位编委更加积极主动的配合我们今后的工作. 审稿费已经通过邮局汇款, 如有审稿费未收到或者审稿稿件有误差, 请各位编委与编辑部联系, 联系电话: 010-85381892, 联系人: 李军亮. (编辑部主任: 李军亮 2010-04-20)

microRNAs调控网络在大肠癌发病机制中的研究进展

杨建军, 马延磊, 秦环龙

■背景资料

大肠癌(CRC)是一个多基因、多阶段、长期形成的复杂的病变过程,近年来研究认为miRNAs通过多种信号通路广泛参与恶性肿瘤(包括CRC)的发生和发展。

杨建军, 马延磊, 秦环龙, 上海交通大学附属第六人民医院外科上海市 200233

上海市科委基金资助项目, No. 07DZ19505

通讯作者: 秦环龙, 教授, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属第六人民医院普外科. huanlong_qin@live.cn

电话: 021-64361349 传真: 021-64368920

收稿日期: 2010-01-29 修回日期: 2010-04-24

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Advances in understanding the role of microRNA regulatory network in the pathogenesis of colorectal cancer

Jian-Jun Yang, Yan-Lei Ma, Huan-Long Qin

Jian-Jun Yang, Yan-Lei Ma, Huan-Long Qin, Department of Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Supported by: the Foundation of Shanghai Municipal Science and Technology Commission, No. 07DZ19505

Correspondence to: Professor Huan-Long Qin, Department of Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China. huanlong_qin@live.cn

Received: 2010-01-29 Revised: 2010-04-24

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are single-stranded non-coding RNAs, typically 19-24 nucleotides in length. By down-regulating gene expression, they widely participate in a variety of important life processes, such as apoptosis, differentiation, proliferation and development. Recent studies have shown that miRNAs can control many oncogene and tumor suppressor pathways that are involved in the development and progression of colorectal cancer (CRC), such as the Wnt/ β -catenin, K-ras, phosphatidylinositol-3-kinase (PI3-K), and P53 signaling pathways. In addition, the research on the effects of single nucleotide polymorphisms (SNPs) on miRNA expression and the epigenetic regulation of microRNAs in CRC has attracted much attention from researchers. This paper will review the role of microRNA regulatory network in the pathogenesis of CRC.

Key Words: MicroRNA; Regulatory network; Signal-

ing pathway; Colorectal cancer; Pathogenesis

Yang JJ, Ma YL, Qin HL. Advances in understanding the role of microRNA regulatory network in the pathogenesis of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1478-1484

摘要

microRNAs(miRNAs)是一种长度为19-24个核苷酸的单链非编码RNAs,他们通过下调基因表达广泛参与各种重要的生命进程,如细胞凋亡、分化、增殖及个体发育等。最近研究表明,miRNAs可调控许多参与大肠癌(colorectal cancer, CRC)发生发展的癌基因和抑癌基因通路,如Wnt/ β -连环蛋白, KRAS, 磷脂酰肌醇(3)-激酶(PI3-K)和P53信号通路等。此外,单核苷酸多态性(SNPs)对CRC中miRNAs表达的影响及miRNAs在CRC表观遗传学改变中的作用也日益受到人们的关注。本文将就miRNAs调控网络在CRC发生发展中的作用作一综述。

关键词: 微小RNAs; 调控网络; 信号通路; 大肠癌; 发病机制

杨建军, 马延磊, 秦环龙. microRNAs调控网络在大肠癌发病机制中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(14): 1478-1484

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1478.asp>

0 引言

大肠癌(colorectal cancer, CRC)是临床最常见的恶性肿瘤之一,在西方发达国家其发病率处于第3位^[1],而在我国其发病率呈上升态势,排在恶性肿瘤和致死因素的第4位^[2]。CRC的发生是一个多因素、多阶段和多基因改变协同作用的过程,癌基因和抑癌基因的表达失调是CRC发生的分子基础。近年来研究认为miRNAs通过多种信号通路广泛参与恶性肿瘤(包括CRC)的发生和发展,进一步明确miRNAs在CRC发病机制中的作用有助于提高CRC的诊治水平。

1 miRNAs的生物合成及其作用机制

miRNAs源于细胞核内,其基因数占人类基因总

■同行评议者

戴冬秋, 教授, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

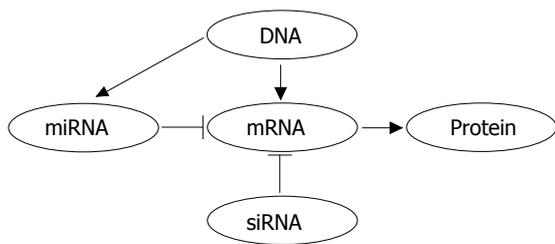


图 1 miRNAs在基因表达调控中的功能. ↓代表正性调节, ⊥代表负性调节.

数的2%-5%, 表达分布于整个基因组. miRNAs常簇生于蛋白编码基因的内含子中. 首先, RNA聚合酶 II 依赖的转录产生较长的初级转录物 (pri-miRNAs), 随后核糖核酸酶Drosha对pri-miRNAs进行加工处理并形成更短的发夹结构, 即前体miRNAs(pre-miRNAs). Pre-miRNAs被转运至细胞质中接受核酸内切酶Dicer的进一步深加工, 形成一个成熟的双链miRNAs, 随后其中一条单链被整合入RNA诱导沉默复合体中(RNA induced silencing complex, RISC), 并通过部分序列互补与靶点mRNAs的3'端非翻译区(3'UTR)相互作用, 从而抑制翻译过程或促使mRNA降解^[3]. 其作用方式在某种程度上类似于短干扰RNA(siRNAs)(图1). 因此, 成熟miRNAs的最终效应是通过阻止靶点蛋白的生成而下调其靶基因表达.

2 CRC中的miRNAs调控网络

当miRNAs的mRNAs靶点受抑癌基因或癌基因编码时, miRNAs的表达失调可影响肿瘤发生. 在CRC发病机制中常存在特异miRNAs的过表达和表达沉默. 通常miRNAs编码基因的转录激活或扩增可致成熟miRNAs的表达上调, 而特定染色体区的缺失或miRNAs生物合成缺陷可导致其表达沉默或下调^[4]. 利用生物信息学工具(如miRBase targets, Targetscan, PicTar, microrna.org, TargetRank, DIANAMicroT, rna22, TarBase等软件^[5]), 人们已经预测了上千种miRNAs的靶基因. 值得关注的是主要的miRNAs靶点均为转录因子或激酶^[6]. 许多研究者试图明确miRNAs基因靶点与其信号通路在癌症发生发展中的关系, 其中部分通路在CRC发展中的作用已得到证实^[7](图2).

目前常用两种方法研究miRNAs和CRC之间的关系, 即功能性研究和表达谱研究. 功能性研究方面, miRNAs可调控许多参与CRC发病机制的癌基因和抑癌基因通路. 参与CRC主要信

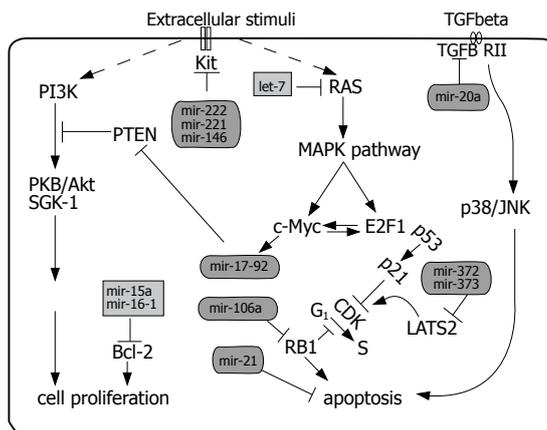


图 2 miRNAs介导的信号通路. miRNAs作为抑癌基因或癌基因参与细胞生存和细胞凋亡通路, 从而促进癌症的发生发展.

号通路的蛋白(如Wnt/ β -连环蛋白和磷脂酰肌醇(3)激酶(PI3-K)通路的成员, KRAS, P53, 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF), 转录因子E2F家族和环氧合酶2(COX-2)等^[8]的表达水平均有改变, 且与miRNAs的调控相关联. 针对这些miRNAs机制的研究有助于进一步明确CRC的发病机制, 从而最终鉴定出新的治疗靶点^[9,10]. 表达谱研究方面, 诸多研究证实, miRNAs存在于CRC肿瘤组织和血液中, 并在CRC的发病机制中起重要作用. 这为如何提高CRC的早期筛查, 诊断和治疗效果及准确判断预后提供了新的研究方向. 本文将对miRNAs在CRC功能性研究方面作重点阐述.

2.1 Wnt/ β -连环蛋白信号通路 Wnt/ β -连环蛋白在早期CRC发生发展中起核心作用. 结肠多发性腺瘤样息肉病(adenomatous polyposis coli, APC)基因失活是CRC发生的主要起始事件之一, 他存在于超过60%的大肠腺瘤和CRC中并通过游离的 β -连环蛋白刺激Wnt通路的活性^[8]. 最近, Nagel等^[11]研究发现miRNAs可能是CRC中一种调控APC发病的新机制. miR-135a和miR-135b在大肠腺瘤和CRC中表达上调, 体外实验进一步证实他们不仅可减少APC转录产物的翻译, 还与APC低表达水平相关联. 这提示miR-135家族的改变可能是CRC分子发病机制的早期事件.

2.2 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)信号通路(KRAS和PI3-K信号通路) EGFR信号通路存在于大量实体肿瘤的发生发展中, 因此是一个有希望的抗癌治疗通路. 当EGFR受刺激后, KRAS信号通路可导致许多信号转导分子活化并引发下游效应因子的级联反应. 这些级联反应介导了肿瘤的生长、生存、血

■ 研发前沿
进一步明确miRNAs参与细胞信号转导, 肿瘤微环境改变及SNPs调控机制及CRC形成的分子生物学与遗传学机制, 对CRC临床诊治和预后判断具有重要的指导意义.

■相关报道

Dews等利用小鼠结肠癌模型证实miR-17-92簇可部分激活c-Myc的血管生成活性。c-Myc可显著诱导这些miRNAs负性调节抗血管生成因子凝血酶敏感蛋白1(TSP1)和结缔组织生长因子(CTGF)。

管发生和转移等^[12]。已有研究发现癌基因KRAS是let-7 miRNAs家族的直接靶点^[13]。低表达let-7 miRNAs的结肠癌细胞系DLD-1中转染let-7a-1前体后,可显著抑制DLD-1的生长;同时KRAS蛋白表达水平也明显降低,而其mRNA表达则无改变^[14]。Chen等^[15]发现在体外经miR-143前体处理后的KRAS表达水平显著降低。miR-143通过抑制KRAS的表达可阻断促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的磷酸化。另外一个与CRC中KRAS调控相关的miRNA是miR-18a;后者在结肠癌细胞系HT-29中可直接调节KRAS的表达水平^[16]。

EGFR下游的另一个重要信号通路是PI3-K通路。现已证实p85 β 调节亚基(参与稳定传导PI3-K信号)是miR-126的直接靶点。在CRC细胞中,由miR-126介导的p85 β 调节亚基表达水平与磷酸化AKT表达水平同时下调,提示miR-126可间接介导PI3-K信号通路的受损。在一组配对的结肠癌与癌旁正常组织标本中,miR-126在肿瘤组织中表达下调,而p85 β 蛋白表达上调^[17]。miR-21在肝细胞癌中可显著抑制抑癌基因PTEN(PI3-K通路中的另一个重要调节成分)的表达^[18];而miR-21是CRC中最常见的表达上调的miRNAs^[19-21]。据此推测,miR-21也可通过参与抑制PTEN的表达来促进PI3-K信号通路的传导,从而与CRC发生发展相关联。

2.3 P53信号通路 抑癌基因P53突变存在于50%-75%的CRC和其他一些肿瘤中。P53通过诱导细胞周期检测点、细胞凋亡或衰老,产生对DNA损伤或有丝分裂基因失调的反应^[8]。P53既是转录激活因子,也可直接或间接抑制特异基因的表达^[22],其发生机制尚不清楚,推测可能与其转录和转录后抑制有关。已有miRNAs调控网络研究表明,通过调控miRNAs表达水平,P53可在转录后水平抑制其靶基因表达,即保守的miRNAs是P53的直接转录靶点^[23]。野生型P53+/+和突变型P53-/-结肠癌细胞系HCT-116经DNA损伤因子处理后,发现一些miRNAs只在野生型HCT-116中被诱导表达,提示在CRC中存在一种由P53介导的miRNAs表达模式。Chang等^[24]研究发现通过P53依赖和非依赖机制,miR-34a的表达可诱导细胞凋亡,提示miR-34a可调控由P53起始的基因表达程序。在包含P53等位基因^[25]与P53+/+和P53-/-小鼠胚胎成纤维细胞^[26]的肿瘤细胞模型中,P53与miR-34a相关性研究证实了上述结论,且miR-34a参与诱导基因表

达重排。在miR-34家族的下调靶点中,与P53相关的靶点如CDK4/6,细胞周期蛋白E2(cyclin E2),E2F5,BIRC3和Bcl-2等变化最为显著^[24-26]。Yamakuchi等^[27]研究证实SIRT1[一种高度保守的基因和凋亡负性调节因子,可编码NAD(+)依赖的脱乙酰酶]是miR-34a的另一个靶点。miR-34a对SIRT1的抑制仅在野生型结肠癌细胞系中诱导细胞凋亡,因此认为在P53和miRNAs之间存在一种正反馈环。

2.4 miRNAs调控其他信号通路 胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)在细胞生长和细胞增殖中扮演重要作用。当IRS-1被I型胰岛素样生长因子受体(type 1 insulin-like growth factor receptor, IGF-IR)激活后,可发出一个明确的促有丝分裂,抗凋亡和抗分化信号。IRS-1的表达水平在肿瘤中常增高,而在分化细胞中降低甚至缺失^[28]。已有研究发现miR-145可作为抑癌基因起作用,当他靶向作用于IRS-1的3'UTR时,可显著抑制结肠癌细胞系的生长^[29]。现已证实IGF-IR是miR-145的一个直接靶点。缺乏3'UTR的IRS-1不再被miR-145下调,并可解除miR-145对结肠癌细胞系的生长抑制。消除IGF-IR的3'UTR可导致对miR-145的耐受,即miR-145既不能下调IGF-IR的表达,也不能恢复miR-145对结肠癌细胞系的生长抑制。这些结果提示miR-145在肿瘤发生的IGF信号通路中起重要作用^[30]。

在一些肿瘤中,编码miR-17-92簇miRNAs的基因组位点发生扩增。miR-17-92簇可能与转录因子E2F家族(调节细胞周期和细胞凋亡)的功能密切相关。最近已证实E2F1,E2F2和E2F3等活化型E2Fs是miR-17-92簇的作用靶点^[31]。miR-17-92簇的致瘤活性可参与细胞的非自主功能包括诱导实体肿瘤内的血管发生等。Dews等^[32]利用小鼠结肠癌模型证实miR-17-92簇可部分激活c-Myc的血管生成活性。c-Myc可显著诱导这些miRNAs负性调节抗血管生成因子凝血酶敏感蛋白1(anti-angiogenic factors thrombospondin-1, TSP1)和结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)。此外,O'Donnell等^[33]研究发现不仅转录因子c-Myc可调节许多miRNAs,反过来,特定miRNAs(如miR-17-5p和miR-20a)又可调节E2F的表达。

COX-2可强烈促进CRC肿瘤细胞的生长和侵袭^[34]。COX-2过表达依赖于各种参与转录和转录后调节的细胞通路。在CRC细胞系中COX-2和miR-101的表达负相关,miR-101可直接介导

对COX-2 mRNA翻译的抑制. 此外, 针对CRC及其肝转移组织的分析也证实了两者之间的相互关系. miR-101表达的缺失可能是CRC细胞系中COX-2过表达的主要原因之一^[34].

3 miRNAs与CRC微环境的关系

3.1 缺氧诱导的miRNAs与CRC的关系 缺氧细胞可表现出抗凋亡和细胞周期停滞特性, 因此缺氧常被认为是肿瘤的一个生物学特征. 许多研究证实缺氧不仅对肿瘤生长起关键的调节作用, 还与肿瘤较强的侵袭力和较差的治疗效果相关联. 最近, Kulshreshtha等^[35]发现缺氧可诱导结肠癌细胞系HT29和HCT116产生特异miRNAs表达谱(包括miR-23, -24, -26, -27, -103, -107, -181, -210和-213), 且其中一些是通过缺氧诱导因子(hypoxia induced factors, HIF)依赖机制产生的. 此外, 在缺氧环境中miR-26, -107和-210可减少促凋亡信号的传导, 提示特异miRNAs可促进肿瘤形成. 大多数缺氧诱导的miRNAs在肿瘤中过表达; 低氧环境引起HIF的释放, 而HIF又可通过miRNAs基因上的HIF结合位点诱导特异miRNAs的表达. 这些缺氧调节的miRNAs(hypoxia-regulated miRNAs, HRM)可抑制细胞死亡或细胞周期进程, 即HRM不仅可抑制caspases级联反应和其他凋亡组分, 如miR-23, miR-26和miR-181分别抑制caspase-7, BAK1和BIM; 还可影响细胞周期蛋白cyclin的表达, 如miR-26, miR-23和miR-21分别对cyclin D2/cyclin E1/cdk6, cyclin H和cdc25A表达的抑制. 最近还有研究发现, 缺氧还可诱导hsa-miR-210在乳腺癌组织中过表达, 且其表达水平是乳腺癌的一个独立的预后因素^[36].

3.2 miRNAs对CRC细胞外基质破坏及上皮间质转化的影响 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)及其重塑对肿瘤细胞的血供与其周围间质的相互作用起重要调控作用. ECM重塑是肿瘤生长, 生存, 侵袭和转移的必要条件. 参与ECM破坏的关键酶多为蛋白酶, 且其中一些是尿激酶纤维蛋白溶酶原激活剂和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)^[37]. 研究发现, miR-21可调节与细胞运动和ECM重塑相关的多种基因, 如抑癌基因RECK, TIMP3及MMPs抑制因子^[38], 且其表达水平在CRC和其他不同起源肿瘤中显著升高^[19]. 应用反义寡核苷酸特异性抑制miR-21的表达可致RECK和TIMP3表达上调, 从而降低MMPs的活性. miR-21表达上调也

可增强CRC细胞的迁移和侵袭力, 其作用机制与在胶质母细胞瘤模型中的相类似^[39]. 已知抑癌基因PDCD4是CRC肿瘤组织中一个独立的预后因素和新的血管内渗调节物. miR-21通过侵袭相关的尿激酶受体可作用于PDCD4. 在CRC细胞系中, miR-21的表达沉默可上调PDCD4表达水平并降低细胞侵袭力. 相比于正常组织, miR-21在22例CRC组织中表达增高, 而PDCD4蛋白水平降低, mRNA表达水平并未变化^[39].

通常将上皮细胞向间质细胞的转化简称为上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT). 因EMT在形态学上常具有E-钙黏蛋白减少, 细胞黏附缺失和细胞运动性增强等特点, 所以他可促进癌细胞迁移^[40]. 转录抑制因子锌指E-盒结合同源异形盒(zinc-finger E-box binding homeobox 1, ZEB1)是许多肿瘤(包括CRC)EMT的重要诱导物^[41]. 最近研究发现ZEB1可以促进肿瘤细胞的侵袭和转移. miR-200家族(miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141和miR-429)与EMT的功能相关联. ZEB1可直接抑制miR-200家族成员miR-141和miR-200c(两者可强烈激活包括CRC在内的一些肿瘤上皮细胞的分化)的转录^[42]. 另外, EMT激活物转化生长因子 β 2和ZEB1是miR-200家族下调的主要靶点. 这些结果提示ZEB1触发了一个可稳定EMT并促进癌细胞侵袭的miRNAs介导的前反馈环. 此环可转换或诱导上皮细胞分化, 这可能是肿瘤内异质性的一个原因.

4 CRC表观基因组遗传改变

包括miRNAs在内的非编码RNAs诱导产生的基因组修饰的改变称为表观遗传改变. 最近的研究显示, 在肿瘤生成中DNA甲基化和组蛋白修饰可调节miRNAs表达. 通过比较结肠癌细胞系HCT116与DNA甲基转移酶1和3b(DNMT1和DNMT3b)双敲除细胞系的miRNAs表达谱, Han等^[43]发现约有10%的miRNAs受DNA甲基化调控. 在CRC中, hsa-miR-342宿主基因EVL上游的CpG岛甲基化导致此miRNAs表达沉默^[44]; 在不同细胞类型的肿瘤中, CpG岛超甲基化可致miR-124a的表达失活^[45]; 此外, CpG岛甲基化对CRC中miR-34b/c的表观沉默起关键作用^[46]. Bandres等^[47]研究发现, 位于CpG岛的miRNAs(hsa-miR-9, hsa-miR-124, hsa-miR-129, hsa-miR-137和hsa-miR-149)在CRC组织标本中表达下调. 而当使用DNA甲基转移酶抑制剂和组蛋白乙酰基酶抑制剂处理3种CRC细胞系后, 其中

■ 创新盘点

本文系统综述了microRNAs调控网络在大肠癌发病机制中作用, 重点总结了CRC中的miRNAs调控网络(包括各种信号通路, 如Wnt/ β -连环蛋白, KRAS和PI3-K及P53信号通路等); 其他文献并未对近年来miRNAs参与调控CRC发病的信号通路进行系统总结, 并明确其重要意义.

■同行评价

本文综述了大肠癌基础研究的前沿内容之一,对国内同行有较好的参考价值.

3个miRNAs(hsa-miR-9, hsa-miR-129 and hsa-miR-137)表达水平上调. 这提示异常的DNA甲基化和组蛋白修饰可诱导CRC中的miRNAs表达沉默. 当然并非所有的miRNAs均受表观基因组调控, 例如当给予CRC细胞系CoLo320和SW1116染色质重塑药物处理后, 可改变细胞系中抑癌基因的表达水平^[48]. 在B细胞淋巴瘤系中并未发现miR-143和miR-145表达上调, 提示表观遗传改变并未对两者起作用^[49]. DNA甲基化对miRNAs的调控相当复杂, 有关在CRC中miRNAs的甲基化模式仍需进一步的研究.

现已发现miR-34家族在许多肿瘤(包括CRC)中低表达^[22]. Tazawa等^[50]报道miR-34a在36%(9/25)的CRC中表达下调, 并认为CpG岛超甲基化可能是导致miR-34家族表达水平减少的主要原因. miR-34a启动子区甲基化存在于13%(3/23)结肠癌组织标本中^[51]; 而miR-34b/c的表达在100%(9/9)结肠癌细胞系和90%(101/111)原发CRC肿瘤中发生表观沉默, 但在正常结肠上皮中则表达正常. 当给予结肠癌细胞系去甲基化因子处理后, miR-34b/c的表达水平又可恢复至正常水平, 并抑制肿瘤细胞转移^[46]. miR-34家族在CRC中的高频甲基化及其在P53基因转录网络中的作用提示, miR-34家族成员也是一种与P53作用类似的抑癌基因, 即其表达失活导致了癌症的发生.

5 miRNAs结合区域多态性和CRC危险因素

miRNAs与mRNAs的结合对调节靶基因表达至关重要. 然而, 这种结合可受miRNAs靶基因位点内单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphisms, SNPs)的影响, SNPs既可消除现已存在的结合位点, 也可产生不合理的结合位点. 因此, miRNAs结合位点内的SNPs对基因和蛋白表达均有影响, 这代表了另一种可影响人类疾病(包括CRC)危险因素的遗传变异类型. 已有许多方法可预测和鉴定功能性miRNAs结合位点内的SNPs, 并在大量的病例对照研究中评估其生物学意义^[52]. 就CRC而言, 在8个计算机模拟预测的候选基因中, 淋巴细胞共同刺激性配体CD86和胰岛素受体基因均携带一个SNPs, 这与散发CRC的危险性显著相关(比值比分别为2.74和1.94)^[53]. 然而这些SNPs的生物学意义需要进一步在体外功能性研究中明确.

6 结论

CRC的发生发展是一个多步骤、多途径、多基

因参与的复杂渐进过程, 近年来越来越多有关miRNAs参与细胞信号转导, 肿瘤微环境改变及SNPs调控的研究进一步补充和丰富了CRC形成的分子生物学与遗传学机制. 此外, 相比于传统的遗传学改变, 表观基因组遗传修饰改变对CRC的发生也具有重要意义. 总之, 深入阐明miRNAs调控网络在CRC发病机制中的作用对CRC临床诊治和预后判断具有重要的指导意义.

7 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225-249
- Yang L, Parkin DM, Li L, Chen Y. Time trends in cancer mortality in China: 1987-1999. *Int J Cancer* 2003; 106: 771-783
- Mirnezami AH, Pickard K, Zhang L, Primrose JN, Packham G. MicroRNAs: key players in carcinogenesis and novel therapeutic targets. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35: 339-347
- Rossi S, Kopetz S, Davuluri R, Hamilton SR, Calin GA. MicroRNAs, ultraconserved genes and colorectal cancers. *Int J Biochem Cell Biol* 2009 Jun 2. [Epub ahead of print]
- Li M, Marin-Muller C, Bharadwaj U, Chow KH, Yao Q, Chen C. MicroRNAs: control and loss of control in human physiology and disease. *World J Surg* 2009; 33: 667-684
- Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003; 115: 787-798
- Wu W, Sun M, Zou GM, Chen J. MicroRNA and cancer: Current status and prospective. *Int J Cancer* 2007; 120: 953-960
- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-767
- Faber C, Kirchner T, Hlubek F. The impact of microRNAs on colorectal cancer. *Virchows Arch* 2009; 454: 359-367
- Aslam MI, Taylor K, Pringle JH, Jameson JS. MicroRNAs are novel biomarkers of colorectal cancer. *Br J Surg* 2009; 96: 702-710
- Nagel R, le Sage C, Diosdado B, van der Waal M, Oude Vrielink JA, Bolijn A, Meijer GA, Agami R. Regulation of the adenomatous polyposis coli gene by the miR-135 family in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 5795-5802
- Ciardello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 2008; 358: 1160-1174
- Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, Labourier E, Reinert KL, Brown D, Slack FJ. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell* 2005; 120: 635-647
- Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 903-906
- Chen X, Guo X, Zhang H, Xiang Y, Chen J, Yin Y, Cai X, Wang K, Wang G, Ba Y, Zhu L, Wang J, Yang R, Zhang Y, Ren Z, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis. *Oncogene* 2009; 28: 1385-1392
- Tsang WP, Kwok TT. The miR-18a* microRNA functions as a potential tumor suppressor by

- targeting on K-Ras. *Carcinogenesis* 2009; 30: 953-959
- 17 Guo C, Sah JF, Beard L, Willson JK, Markowitz SD, Guda K. The noncoding RNA, miR-126, suppresses the growth of neoplastic cells by targeting phosphatidylinositol 3-kinase signaling and is frequently lost in colon cancers. *Genes Chromosomes Cancer* 2008; 47: 939-946
- 18 Meng F, Henson R, Wehbe-Janeck H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133: 647-658
- 19 Krichevsky AM, Gabrieli G. miR-21: a small multifaceted RNA. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 39-53
- 20 Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, Nenutil R, Vyzula R. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72: 397-402
- 21 Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, Zanetti KA, Bowman ED, Yanaihara N, Yuen ST, Chan TL, Kwong DL, Au GK, Liu CG, Calin GA, Croce CM, Harris CC. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA* 2008; 299: 425-436
- 22 He L, He X, Lowe SW, Hannon GJ. microRNAs join the p53 network--another piece in the tumour-suppression puzzle. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 819-822
- 23 Hermeking H. p53 enters the microRNA world. *Cancer Cell* 2007; 12: 414-418
- 24 Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, Ramachandran K, Mullendore M, Lee KH, Feldmann G, Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ, Arking DE, Beer MA, Maitra A, Mendell JT. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell* 2007; 26: 745-752
- 25 Bommer GT, Gerin I, Feng Y, Kaczorowski AJ, Kuick R, Love RE, Zhai Y, Giordano TJ, Qin ZS, Moore BB, MacDougald OA, Cho KR, Fearon ER. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol* 2007; 17: 1298-1307
- 26 Corney DC, Flesken-Nikitin A, Godwin AK, Wang W, Nikitin AY. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion-independent growth. *Cancer Res* 2007; 67: 8433-8438
- 27 Yamakuchi M, Ferlito M, Lowenstein CJ. miR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 13421-13426
- 28 Pechlivanis S, Pardini B, Bermejo JL, Wagner K, Naccarati A, Vodickova L, Novotny J, Hemminki K, Vodicka P, Försti A. Insulin pathway related genes and risk of colorectal cancer: INSR promoter polymorphism shows a protective effect. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14: 733-740
- 29 Shi B, Sepp-Lorenzino L, Prisco M, Linsley P, deAngelis T, Baserga R. Micro RNA 145 targets the insulin receptor substrate-1 and inhibits the growth of colon cancer cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 32582-32590
- 30 La Rocca G, Badin M, Shi B, Xu SQ, Deangelis T, Sepp-Lorenzino L, Baserga R. Mechanism of growth inhibition by MicroRNA 145: the role of the IGF-1 receptor signaling pathway. *J Cell Physiol* 2009; 220: 485-491
- 31 Woods K, Thomson JM, Hammond SM. Direct regulation of an oncogenic micro-RNA cluster by E2F transcription factors. *J Biol Chem* 2007; 282: 2130-2134
- 32 Dews M, Homayouni A, Yu D, Murphy D, Seignani C, Wentzel E, Furth EE, Lee WM, Enders GH, Mendell JT, Thomas-Tikhonenko A. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nat Genet* 2006; 38: 1060-1065
- 33 O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell JT. c-Myc-regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005; 435: 839-843
- 34 Strillacci A, Griffoni C, Sansone P, Paterini P, Piazzini G, Lazzarini G, Spisni E, Pantaleo MA, Biasco G, Tomasi V. MiR-101 downregulation is involved in cyclooxygenase-2 overexpression in human colon cancer cells. *Exp Cell Res* 2009; 315: 1439-1447
- 35 Kulshreshtha R, Ferracin M, Wojcik SE, Garzon R, Alder H, Agosto-Perez FJ, Davuluri R, Liu CG, Croce CM, Negrini M, Calin GA, Ivan M. A microRNA signature of hypoxia. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 1859-1867
- 36 Camps C, Buffa FM, Colella S, Moore J, Sotiriou C, Sheldon H, Harris AL, Gleadle JM, Ragoussis J. hsa-miR-210 is induced by hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 1340-1348
- 37 Takayama T, Miyaniishi K, Hayashi T, Sato Y, Niitsu Y. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. *J Gastroenterol* 2006; 41: 185-192
- 38 Gabriely G, Wurdinger T, Kesari S, Esau CC, Burchard J, Linsley PS, Krichevsky AM. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5369-5380
- 39 Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, Leupold JH, Colburn NH, Post S, Allgayer H. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. *Oncogene* 2008; 27: 2128-2136
- 40 Natalwala A, Spychal R, Tselepis C. Epithelial-mesenchymal transition mediated tumorigenesis in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3792-3797
- 41 Spaderna S, Schmalhofer O, Hlubek F, Berx G, Eger A, Merkel S, Jung A, Kirchner T, Brabletz T. A transient, EMT-linked loss of basement membranes indicates metastasis and poor survival in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2006; 131: 830-840
- 42 Burk U, Schubert J, Wellner U, Schmalhofer O, Vincan E, Spaderna S, Brabletz T. A reciprocal repression between ZEB1 and members of the miR-200 family promotes EMT and invasion in cancer cells. *EMBO Rep* 2008; 9: 582-589
- 43 Han L, Witmer PD, Casey E, Valle D, Sukumar S. DNA methylation regulates MicroRNA expression. *Cancer Biol Ther* 2007; 6: 1284-1288
- 44 Grady WM, Parkin RK, Mitchell PS, Lee JH, Kim YH, Tsuchiya KD, Washington MK, Paraskeva C, Willson JK, Kaz AM, Kroh EM, Allen A, Fritz BR, Markowitz SD, Tewari M. Epigenetic silencing of the intronic microRNA hsa-miR-342 and its host gene EVL in colorectal cancer. *Oncogene* 2008; 27: 3880-3888
- 45 Lujambio A, Ropero S, Ballestar E, Fraga MF, Cerrato C, Setién F, Casado S, Suarez-Gauthier

- A, Sanchez-Cespedes M, Git A, Spiteri I, Das PP, Caldas C, Miska E, Esteller M. Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1424-1429
- 46 Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y, Maruyama R, Imai K, Shinomura Y, Tokino T. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 4123-4132
- 47 Bandres E, Agirre X, Bitarte N, Ramirez N, Zarate R, Roman-Gomez J, Prosper F, Garcia-Foncillas J. Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2009; 125: 2737-2743
- 48 Fang JY, Chen YX, Lu J, Lu R, Yang L, Zhu HY, Gu WQ, Lu LG. Epigenetic modification regulates both expression of tumor-associated genes and cell cycle progressing in human colon cancer cell lines: Colo-320 and SW1116. *Cell Res* 2004; 14: 217-226
- 49 Akao Y, Nakagawa Y, Kitade Y, Kinoshita T, Naoe T. Downregulation of microRNAs-143 and -145 in B-cell malignancies. *Cancer Sci* 2007; 98: 1914-1920
- 50 Tazawa H, Tsuchiya N, Izumiya M, Nakagama H. Tumor-suppressive miR-34a induces senescence-like growth arrest through modulation of the E2F pathway in human colon cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 15472-15477
- 51 Lodygin D, Tarasov V, Epanchintsev A, Berking C, Knyazeva T, Körner H, Knyazev P, Diebold J, Hermeking H. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle* 2008; 7: 2591-2600
- 52 Chen K, Song F, Calin GA, Wei Q, Hao X, Zhang W. Polymorphisms in microRNA targets: a gold mine for molecular epidemiology. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1306-1311
- 53 Landi D, Gemignani F, Naccarati A, Pardini B, Vodicka P, Vodickova L, Novotny J, Försti A, Hemminki K, Canzian F, Landi S. Polymorphisms within micro-RNA-binding sites and risk of sporadic colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2008; 29: 579-584

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表,同时保护作者与世界华人消化杂志的合法权益,本刊对修回稿要求如下.

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函.内容包括:(1)保证无重复发表或一稿多投;(2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突;(3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负;(4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件;通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核核稿;(5)列出作者贡献分布;(6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信;(7)愿将印刷版和电子版版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期寄回的,作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负.作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期);起止页码.如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有.编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布;作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.

稳定干扰Pin1基因的食管癌细胞株的筛选及其生物学特征

李玲, 陈平, 连鸿凯, 赵继敏, 马俊芬, 董子明

李玲, 陈平, 赵继敏, 马俊芬, 董子明, 郑州大学基础医学院病理生理教研室 河南省郑州市 450001
连鸿凯, 郑州市骨科医院 河南省郑州市 450001
作者贡献分布: 李玲与陈平对此文所作贡献均等; 此课题由李玲、陈平及董子明设计; 研究过程由李玲与陈平操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由赵继敏、马俊芬及连鸿凯提供; 数据分析由李玲与陈平完成; 本论文写作由李玲与陈平完成。
通讯作者: 董子明, 教授, 450001, 河南省郑州市, 郑州大学基础医学院病理生理教研室. dongzm@zzu.edu.cn
电话: 0371-67781956
收稿日期: 2010-03-18 修回日期: 2010-04-20
接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-05-18

Screening and characterization of stable Pin1-knockdown esophageal squamous cell carcinoma cell strains

Ling Li, Ping Chen, Hong-Kai Lian, Ji-Min Zhao, Jun-Fen Ma, Zi-Ming Dong

Ling Li, Ping Chen, Ji-Min Zhao, Jun-Fen Ma, Zi-Ming Dong, Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan Province, China
Hong-Kai Lian, Zhengzhou Orthopedic Hospital, Zhengzhou 450001, Henan Province, China
Correspondence to: Professor Zi-Ming Dong, Department of Pathophysiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan Province, China. dongzm@zzu.edu.cn
Received: 2010-03-18 Revised: 2010-04-20
Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To screen stable peptidyl-prolyl cis/trans isomerase (Pin1)-knockdown esophageal squamous cell carcinoma cell strains and to study the effects of Pin1 down-regulation on the biological characteristics of esophageal squamous cell carcinoma cells (EC1).

METHODS: After EC1 cells were transfected with pmU6-Pin1 plasmid, cell strains stably expressing Pin1 siRNA were selected in the presence of G418. The expression of Pin1 protein was detected by Western blotting. After stable Pin1-knockdown cell strains were obtained, the impact of Pin1 knockdown on cell growth and apoptosis was detected by MTT assay and flow cytometry, respectively.

RESULTS: Western blot analysis showed that the expression of Pin1 protein was effectively inhibited in EC1 cell strains stably expressing Pin1 siRNA. MTT assay and flow cytometry showed that Pin1 knockdown inhibited cell proliferation (the reduced rate of cell proliferation: 51.8%) and induced cell apoptosis (apoptosis rate: 46.39%). Inhibition of Pin1 could significantly increase the sensitivity of EC1 to cisplatin (CDDP) since the reduced rate of cell proliferation increased from 23.5% to 61.0% and the apoptosis rate from 26.10% to 58.95%.

CONCLUSION: Stable Pin1-knockdown esophageal squamous cell carcinoma cell strains provide a basis for studying Pin1 function in esophageal squamous cell carcinoma. The observation that Pin1 knockdown could increase the sensitivity of EC1 cells to CDDP provides new insight into the therapy of esophageal squamous cell carcinoma.

Key Words: Constitutive interference; Peptidyl-prolyl cis/trans isomerase; Proliferation; Apoptosis; Cisplatin

Li L, Chen P, Lian HK, Zhao JM, Ma JF, Dong ZM. Screening and characterization of stable Pin1-knockdown esophageal squamous cell carcinoma cell strains. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1485-1488

摘要

目的: 筛选稳定干扰Pin1的食管癌细胞系, 研究Pin1表达与食管癌细胞生物学特征的关系。

方法: 将针对Pin1基因的shRNA(pmU6-Pin1)转染入EC1细胞, 经G418加压筛选稳定表达Pin1小干扰RNA的细胞株, 用免疫印迹法检测细胞中Pin1的表达, 确定筛选细胞系的正确性。通过MTT实验以及流式细胞仪检测Pin1抑制对食管癌细胞增殖、凋亡的影响。

结果: Western blot检测结果显示, Pin1蛋白表达被成功抑制, 建立了稳定表达Pin1小干扰RNA的细胞株(shPin1)。与正常EC1细胞比较, MTT实验和流式细胞术实验结果表明基因沉默Pin1抑制食管癌细胞增殖(抑制率为51.8%), 诱导细胞凋亡(凋亡率为46.39%); 并增加了

■背景资料

Pin1的作用底物涉及有丝分裂蛋白、细胞骨架蛋白、转录因子蛋白以及凋亡蛋白等, 与多种肿瘤的发生密切相关, 抑制Pin1的功能或减少其表达将能有效地抑制癌症的发生和肿瘤的进程。顺铂(CDDP)是治疗癌症的常用药物之一。但一些肿瘤细胞对顺铂产生耐药性, 限制了顺铂的临床应用。本研究利用RNA干扰技术, 通过药物筛选, 得到稳定特异性抑制Pin1的食管癌细胞系, 检测对食管癌细胞增殖、凋亡的影响; 同时检测对常用化疗药物顺铂的敏感度, 以期找到一种新的食管癌治疗策略。

■同行评议者

李增山, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学病理教研室

■ 研究前沿

手术后化疗是食管癌重要的辅助治疗措施,但由于肿瘤细胞对化疗药物的耐药性,大大增加了食管癌治疗的难度。如何提高化疗药物的敏感性,具有重要的临床意义。

食管癌细胞EC1对顺铂的敏感性,抑制食管癌细胞增殖以及诱导细胞凋亡的能力均有所增强,抑制率从23.5%上升到61.0%,凋亡率从26.10%上升到58.95%。

结论: 稳定干扰Pin1食管癌细胞系的建立为进一步研究Pin1在食管癌中的作用提供了研究平台;基因沉默Pin1增加了食管癌细胞对顺铂的敏感性。

关键词: 稳定干扰; Pin1; 增殖; 凋亡; 顺铂

李玲, 陈平, 连鸿凯, 赵继敏, 马俊芬, 董子明. 稳定干扰Pin1基因的食管癌细胞株的筛选及其生物学特征. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1485-1488
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1485.asp>

0 引言

肽酰-脯氨酰顺反异构酶(Pin1)特异性地识别蛋白质分子中已磷酸化的丝氨酸/苏氨酸-脯氨酸(pSer/Thr-Pro)基序,催化其肽键构型改变,影响磷酸化蛋白的功能^[1,2]。Pin1的作用底物涉及有丝分裂蛋白、细胞骨架蛋白、转录因子蛋白以及凋亡蛋白等,与多种肿瘤的发生密切相关^[3-5]。抑制Pin1的功能或减少其表达将能有效地抑制癌症的发生和肿瘤的进程^[6]。顺铂(CDDP)是治疗癌症的常用药物之一,但一些肿瘤细胞对顺铂产生耐药性,限制了顺铂的临床应用。本研究利用RNA干扰技术,通过药物筛选,得到稳定特异性抑制Pin1的食管癌细胞系,检测对食管癌细胞增殖、凋亡的影响;同时检测对常用化疗药物顺铂的敏感度,以期找到一种新的食管癌治疗策略。

1 材料和方法

1.1 材料 食管癌细胞系EC1由本教研室保存;Lipofectamine 2000购自Invitrogen;四氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)购自Sigma公司;顺铂(CDDP)购自云南生物谷灯盏花药业有限公司;G418购自北京索来宝公司;Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自郑州宝赛生物有限公司。

1.2 方法

1.2.1 药物配制: 将顺铂(CDDP)配制成终浓度为2 mg/L的工作液;将G418配制成100 g/L的储存浓度,贮存于-20 ℃。

1.2.2 针对Pin1基因shRNA序列的设计及shRNA表达载体的构建及鉴定: 构建的干扰质粒命名为pmU6-Pin1;构建的阴性对照干扰质粒命名为pmU6-4A。

1.2.3 稳定细胞系筛选: 将EC1细胞接种于6孔板,待其生长至60%-70%融合时转染,方法遵循Lipofectamine 2000操作手册。48 h后细胞消化传代,24 h细胞贴壁后加入含400 mg/L G418的1640培养基,筛选稳定转染细胞。待出现G418抗性克隆时,将克隆通过96孔板进行单克隆化,筛选稳定表达Pin1小干扰RNA的细胞系。

1.2.4 蛋白印迹法检测Pin1蛋白表达: 分别提取基因沉默细胞系以及对照细胞系,进行细胞裂解和蛋白提取,测定蛋白浓度。通过15% SDS-PAGE分离后转至PVDF膜上,4 ℃封闭过夜,分别加Pin1(R&D)和β-actin抗体(Santa Cruz)室温孵育2 h,0.05% PBST溶液洗膜,加入红外标记的二抗(LI-COR公司)室温孵育1 h,0.05% PBST洗膜后使用红外扫描检测膜上印迹的蛋白。

1.2.5 MTT比色法测定细胞的生长抑制率: 取对数生长期的食管癌EC1细胞以及基因沉默Pin1细胞系,接种于96孔板,分4组:对照组(EC1组)、CDDP组、基因沉默Pin1细胞组以及基因沉默Pin1+CDDP组。细胞贴壁后,按分组情况相应加入2 g/L的CDDP,48 h后分别加入MTT(5 g/L)20 μL,37 ℃温育4 h后弃培养液,加DMSO 150 μL,振荡10 min,结晶完全溶解。在酶标仪上于570 nm波长测吸光度(A)值,空白对照调零。并按照下面公式计算各组对EC1细胞增殖活力的抑制:细胞抑制率(%) = (阴性对照组A值-实验组A值/阴性对照组A值) × 100%。

1.2.6 流式细胞仪(FCM)测定细胞凋亡: 取对数生长期的食管癌EC1细胞以及基因沉默Pin1细胞系,接种到6孔培养板上,分组同上。待细胞贴壁后,按分组相应的加入2 g/L的CDDP,48 h后收集细胞。按照试剂盒说明书步骤处理细胞后,直接采用FACSort流式细胞仪(美国BD公司产品)进行检测分析。实验设置相应的对照组。

统计学处理 所有实验均重复3次,数据以-t-s表示,统计学分析均使用SigmaPlot软件进行处理,各组间均数的比较采用t检验,0.05为显著性水平界值。

2 结果

2.1 基因沉默Pin1稳定细胞系中蛋白表达水平的检测 Western blot实验结果显示,与未处理组细胞相比,转染质粒pmU6-4A组的EC1细胞中Pin1蛋白表达水平无明显变化;稳定转染pmU6-Pin1质粒的细胞系,与其他两对对照组细胞比较,对靶蛋白的沉默效果明显,其表达抑制率达到了90%

表 1 抑制Pin1对EC1细胞增殖以及对CDDP敏感性的影响

	对照组	CDDP组	shPin1组	shPin1+CDDP组
A值	1.2327 ± 0.01	0.9426 ± 0.03	0.5945 ± 0.05	0.4802 ± 0.01
抑制率(%)	0.0	23.5	51.8	61.0

表 2 基因沉默Pin1增强顺铂诱导的食管癌EC1细胞凋亡 (%)

	对照组	CDDP组	shPin1组	shPin1+CDDP组
UR	8.03	12.77	18.18	31.69
LR	4.82	13.33	28.21	27.26
总凋亡率 (UR+LR)	12.85	26.10	46.39	58.95

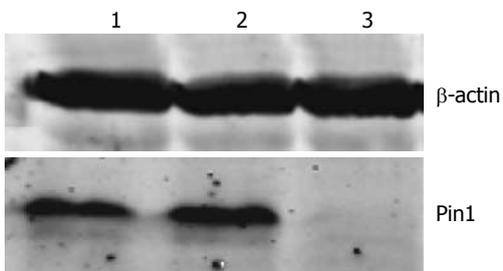


图 1 基因沉默Pin1的Western blot检测.. 1: EC1 cell; 2: mu6-4A; 3: mu6-Pin1.

以上(图1).

2.2 基因沉默Pin1增强了顺铂对食管癌EC1细胞增殖的抑制作用 EC1细胞以及基因沉默Pin1的EC1细胞系, 经CDDP处理48 h后, MTT法检测细胞增殖的变化, 结果见表1. 将EC1细胞组作为对照组, 基因沉默Pin1的细胞组显著抑制了食管癌细胞的增殖(抑制率为51.8%), 并且增强了顺铂抑制食管癌EC1细胞增殖的能力(抑制率为61.0%), 与空白对照组以及CDDP组、shPin1组分别比较, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$).

2.3 基因沉默Pin1增强了顺铂诱导食管癌EC1细胞凋亡的能力 EC1细胞以及基因沉默Pin1的EC1细胞系, 经CDDP处理48 h后, 流式细胞仪检测细胞凋亡率的变化, 结果见表2, 图2. 基因沉默Pin1后增强了EC1细胞的凋亡率(46.39%), 并且增加了EC1细胞对顺铂的敏感性, 诱导细胞的凋亡率从26.10%增加到了58.95%.

3 讨论

Pin1在许多肿瘤中过度表达, 被称为肿瘤发生的

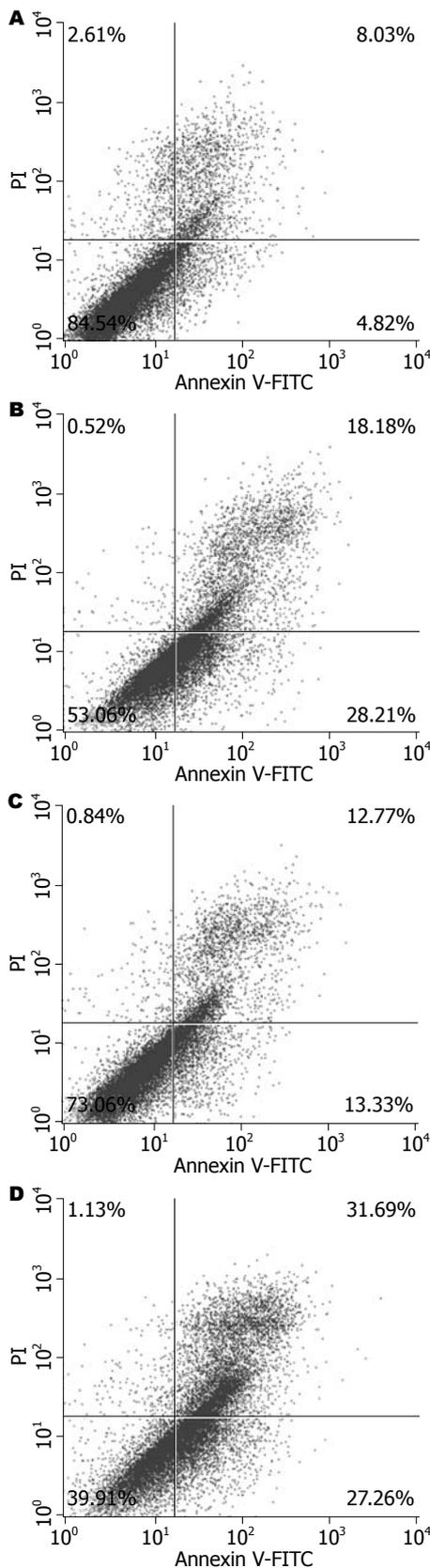


图 2 基因沉默Pin1对顺铂诱导的食管癌EC1细胞凋亡的影响. A: EC1; B: shPin1; C: EC1+CDDP; D: shPin1+CDDP.

应用要点
基因沉默Pin1可以提高CDDP抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡的能力, 二者抑制食管癌细胞增殖、诱导食管癌细胞凋亡的效应叠加可提高抗肿瘤的疗效.

催化分子^[7]. 为了进一步了解Pin1在食管癌发生中的作用, 我们通过构建特异性靶向Pin1的干扰

■同行评价

本研究通过抑制Pin1在食管癌细胞系EC1中的表达,发现可抑制细胞的增殖,并提高对化疗药物的敏感性,为探讨Pin1在食管癌中的治疗作用提供了一定的研究基础。

质粒,将其导入食管癌EC1细胞,经过G418药物筛选获得了稳定沉默Pin1表达的食管癌细胞株,并测定了基因沉默Pin1后对食管癌细胞增殖、凋亡的影响。结果显示,抑制Pin1可以抑制食管癌细胞的增殖、诱导细胞凋亡,为我们更深入地研究Pin1在食管癌发生中的作用机制奠定了基础。

手术后化疗是食管癌重要的辅助治疗措施^[8],但由于肿瘤细胞对化疗药物的耐药性,大大增加了食管癌治疗的难度。如何提高化疗药物的敏感性,具有重要的临床意义。随着科技的发展,信号转导通路中的信号分子逐渐成为癌症靶向治疗中具有发展潜力的治疗方式^[9]。许多方面的证据表明Pin1是一个具有潜力的癌症药物治疗靶标,抑制Pin1可以自发的抑制多条原癌信号通路^[10,11]。

DNA损伤在食管癌的发病机制中占有重要地位^[12]。各种DNA损伤性应激刺激细胞所导致的细胞周期阻滞或凋亡,是因为野生型p53的作用所致。而野生型p53的积聚与稳定,是由Pin1所调节的^[5,13,14]。顺铂作为DNA损伤剂,其作用机制在于引起DNA复制障碍,诱导细胞凋亡,并且这种凋亡为p53依赖性的^[15]。因此我们推测抑制Pin1可能增强肿瘤细胞对顺铂的敏感性。本研究结果证实了这一推测。基因沉默Pin1可以提高CDDP抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡的能力,二者抑制食管癌细胞增殖、诱导食管癌细胞凋亡的效应叠加可提高抗肿瘤的疗效,为探讨食管癌治疗中常规化疗药结合特异性信号通路阻断的治疗新策略提供思路与理论依据。

4 参考文献

- 1 Lu KP, Zhou XZ. The prolyl isomerase PIN1: a pivotal new twist in phosphorylation signalling and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 904-916
- 2 Yeh ES, Means AR. PIN1, the cell cycle and cancer.

- 3 *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 381-388
- 3 Wulf G, Garg P, Liou YC, Iglehart D, Lu KP. Modeling breast cancer in vivo and ex vivo reveals an essential role of Pin1 in tumorigenesis. *EMBO J* 2004; 23: 3397-3407
- 4 Fukuchi M, Fukai Y, Kimura H, Sohda M, Miyazaki T, Nakajima M, Masuda N, Tsukada K, Kato H, Kuwano H. Prolyl isomerase Pin1 expression predicts prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma and correlates with cyclinD1 expression. *Int J Oncol* 2006; 29: 329-334
- 5 Wulf GM, Liou YC, Ryo A, Lee SW, Lu KP. Role of Pin1 in the regulation of p53 stability and p21 transactivation, and cell cycle checkpoints in response to DNA damage. *J Biol Chem* 2002; 277: 47976-47979
- 6 Ryo A, Uemura H, Ishiguro H, Saitoh T, Yamaguchi A, Perrem K, Kubota Y, Lu KP, Aoki I. Stable suppression of tumorigenicity by Pin1-targeted RNA interference in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7523-7531
- 7 林美举, 于永惕, 吴河水. Pin1与肿瘤. *中国普通外科杂志* 2006; 15: 286-288
- 8 闵敏, 钟国成. 食管癌生物化疗研究进展. *西南国防医药* 2009; 19: 1050-1052
- 9 Druker BJ. Perspectives on the development of a molecularly targeted agent. *Cancer Cell* 2002; 1: 31-36
- 10 Ryo A, Liou YC, Lu KP, Wulf G. Prolyl isomerase Pin1: a catalyst for oncogenesis and a potential therapeutic target in cancer. *J Cell Sci* 2003; 116: 773-783
- 11 Ryo A, Nakamura M, Wulf G, Liou YC, Lu KP. Pin1 regulates turnover and subcellular localization of beta-catenin by inhibiting its interaction with APC. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 793-801
- 12 赵继敏, 路静, 刘康栋, 王瑾瑾, 杨洪艳, 黄幼田, 董子明. 互隔交链孢酚通过PKA-CREB信号通路激活NIH3T3细胞中DNA聚合酶 β 表达. *中国病理生理杂志* 2009; 25: 744-748
- 13 Zheng H, You H, Zhou XZ, Murray SA, Uchida T, Wulf G, Gu L, Tang X, Lu KP, Xiao ZX. The prolyl isomerase Pin1 is a regulator of p53 in genotoxic response. *Nature* 2002; 419: 849-853
- 14 Zacchi P, Gostissa M, Uchida T, Salvagno C, Avolio F, Volinia S, Ronai Z, Blandino G, Schneider C, Del Sal G. The prolyl isomerase Pin1 reveals a mechanism to control p53 functions after genotoxic insults. *Nature* 2002; 419: 853-857
- 15 张丽杰, 武湘云, 赵振军, 易小乐, 余小平, 高健, 朱俊真. 顺铂诱导人卵巢癌细胞系HO-8910细胞凋亡. *中国肿瘤* 2004; 13: 261-263

编辑 李军亮 电编 何基才

幽门螺杆菌感染者IL-1 β 分泌与糜烂性食管炎的关系

章菲菲, 瞿玲玲, 曹广亚, 许子倩, 吕鸣, 吕有灵

章菲菲, 瞿玲玲, 许子倩, 吕鸣, 吕有灵, 武警上海总队医院消化科 上海市 201103
曹广亚, 武警上海总队医院检验科 上海市 201103
作者贡献分布: 章菲菲与瞿玲玲对本文贡献均等; 本课题由章菲菲与瞿玲玲设计; 病例收集和内镜检查由章菲菲、瞿玲玲、许子倩、吕鸣及吕有灵完成; 曹广亚负责实验室检测和质控; 数据分析由章菲菲完成; 本论文写作由章菲菲与瞿玲玲完成。
通讯作者: 章菲菲, 副主任医师, 201103, 上海市, 武警上海总队医院消化科. florafeitwo@sina.com
收稿日期: 2010-01-10 修回日期: 2010-03-30
接受日期: 2010-04-07 在线出版日期: 2010-05-18

Association between interleukin-1 β production and erosive esophagitis in *Helicobacter pylori*-infected patients

Fei-Fei Zhang, Ling-Ling Qu, Guang-Ya Cao, Zi-Qian Xu, Ming Lv, You-Ling Lv

Fei-Fei Zhang, Ling-Ling Qu, Zi-Qian Xu, Ming Lv, You-Ling Lv, Department of Gastroenterology, Shanghai Corps Hospital of the Chinese People's Armed Police Force, Shanghai 201103, China
Guang-Ya Cao, Department of Clinical Laboratory, Shanghai Corps Hospital of the Chinese People's Armed Police Force, Shanghai 201103, China
Correspondence to: Fei-Fei Zhang, Department of Gastroenterology, Shanghai Corps Hospital of the Chinese People's Armed Police Force, Shanghai 201103, China. florafeitwo@sina.com
Received: 2010-01-10 Revised: 2010-03-30
Accepted: 2010-04-07 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To explore the mechanism underlying the lower prevalence of gastroesophageal reflux disease in *Helicobacter pylori* (*H.pylori*)-infected patients by analyzing the association between interleukin-1 β (IL-1 β) production and erosive esophagitis (EE) in *H.pylori*-infected patients.

METHODS: A total of 456 consecutive dyspeptic patients without peptic ulcer or cancer were included in the study. EE was assessed endoscopically. *H.pylori* infection was diagnosed by ¹⁴C-urea breath test, rapid urease test and histological examination. The level of IL-1 β production in gastric mucosa was detected by radioimmunoassay.

RESULTS: Three hundred and two patients were positive and 154 were negative for *H.pylori*. One hundred and forty-one patients were found to have EE according to endoscopic criteria (Los Angeles classification of esophagitis). The prevalence of EE in *H.pylori*-positive patients (39/302, 12.9%; 95%CI: 9.1%-16.9%) was significantly lower than that in *H.pylori*-negative ones (102/154, 66.2%; 95%CI: 58.4%-73.0%; $P = 0.000$). The level of IL-1 β in *H.pylori*-positive patients was higher than that in *H.pylori*-negative ones ($P = 0.007$). In *H.pylori*-positive patients, the level of IL-1 β production in EE patients was lower than that in those without EE ($P = 0.032$).

CONCLUSION: The "protective" mechanism of *H.pylori* infection against EE is probably associated with IL-1 β production.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Esophagitis; Interleukin-1

Zhang FF, Qu LL, Cao GY, Xu ZQ, Lv M, Lv YL. Association between interleukin-1 β production and erosive esophagitis in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1489-1491

摘要

目的: 分析*H.pylori*感染者中IL-1 β 表达与糜烂性食管炎(EE)发生的关系, 探索*H.pylori*感染者中EE发生减少的机制。

方法: 收集2007-05/2009-05武警上海总队医院行胃镜检查者(排除消化性溃疡和消化系统肿瘤患者)共456例, 行*H.pylori*和胃窦黏膜活检组织IL-1 β 检测。

结果: 根据Los Angeles食管炎分级系统诊断反流性食管炎141例。*H.pylori*阳性组中EE的发生率(39/302, 12.9%, 95%CI: 9.1%-16.9%)显著低于*H.pylori*阴性组(102/154, 66.2%, 95%CI: 58.4%-73.0%)($P = 0.000$)。*H.pylori*阳性组胃窦活检组织中IL-1 β 表达明显高于*H.pylori*阴性组($P = 0.007$), 而且*H.pylori*阳性组中合并EE患者的IL-1 β 表达量较不合并EE者低($P = 0.032$)。

■背景资料

幽门螺杆菌(*H.pylori*)感染与胃食管反流病的关系仍然有争议, 目前认为*H.pylori*感染可能是胃食管反流病的一个保护因素。其中IL-1 β 可能起了很重要的作用。

■同行评议者

王承党, 教授, 福建医科大学附属第一医院消化内科

■ 相关报道

Ando等均报道IL-1 β 基因型与GERD之间存在联系。

结论: *H.pylori*感染对EE发生的“保护”机制可能与IL-1 β 表达有关。

关键词: 幽门螺杆菌; 食管炎; 白介素-1

章菲菲, 瞿玲玲, 曹广亚, 许子倩, 吕鸣, 吕有灵. 幽门螺杆菌感染者IL-1 β 分泌与糜烂性食管炎的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1489-1491
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1489.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H.pylori*)与食管反流病(gastro-esophageal reflux disease, GERD)的关系仍存在争议, 但对GERD与胃酸过多暴露有关已获得共识. 白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)是机体对*H.pylori*免疫炎症反应中最关键的功能细胞因子, 能抑制胃酸的分泌^[1]. 国外报道IL-1 β 基因型与GERD之间存在联系^[2], 最近国内也有类似发现^[3]. 本研究拟通过检测反流性食管炎患者*H.pylori*感染、胃黏膜组织中IL-1 β 表达, 分析反流性食管炎中*H.pylori*感染与IL-1 β 表达的关系, 了解*H.pylori*感染是否通过IL-1 β 表达从而减少糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)的发生, 探索EE的发病机制.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2007-05/2009-05间来我院行胃镜检查所有诊断慢性胃炎(包括浅表性和萎缩性)者. 排除标准: 诊断消化性溃疡、消化系恶性肿瘤或胃大部切除术后; 既往曾行抗*H.pylori*治疗; 检查前1 mo内服用过非甾体消炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)、质子泵抑制剂、抗菌素或铋剂.

1.2 方法

1.2.1 EE的诊断标准: 通过内镜诊断, 采用Los Angeles食管炎分级系统.

1.2.2 *H.pylori*感染的判断方法: ¹⁴C-尿素酶呼气试验(¹⁴C urea breath test, ¹⁴C-UBT)、快速尿素酶试验和胃窦活检Giemsa染色任意二者结果均为阳性.

1.2.3 胃组织病理学检查: 经胃镜分别从胃窦和胃体获取两块活检标本, 行常规HE染色, 由病理科医师根据改良悉尼系统完成病理诊断.

1.2.4 IL-1 β 表达的原位检测: 取材后的2块黏膜组织经孵育、匀浆、离心后取上清液放-80 °C低温冰箱中冻存以备检测细胞因子含量. 以上所得上清液中IL-1 β 浓度采用放免法测定. 检测

严格按说明书操作.

1.2.5 根据*H.pylori*检测结果将研究对象分为两组: *H.pylori*阳性组和阴性组. 比较两组中EE的发生率和IL-1 β 表达的差异; 分析EE发生率与IL-1 β 表达量的相关性. EE的诊断、*H.pylori*和IL-1 β 的测定以及病理诊断均采用独立、盲法进行.

统计学处理 组间差异的显著性比较采用方差分析, 相关性采用Spearman相关分析. 使用SPSS11.0软件完成统计分析.

2 结果

连续入选456例慢性胃炎患者. 其中EE 141例, 男92例, 女49例. 根据Los Angeles食管炎分级标准, A级: 110例, B级: 23例, C级6例, D级: 2例. 根据¹⁴C-UBT、尿素酶和胃窦活检标本Giemsa染色结果判断, *H.pylori*阳性302例(66.2%), *H.pylori*阴性154例(33.8%). 141例EE患者中*H.pylori*阳性者39例(27.7%), 阴性者102例(72.3%).

2.1 *H.pylori*阳性和阴性组中EE的发生率 *H.pylori*阳性组中诊断EE者39例(39/302, 12.9%, 95%CI: 9.1%-16.9%), *H.pylori*阴性组中诊断EE者102例(102/154, 66.2%, 95%CI: 58.4%-73.0%), 在*H.pylori*阴性组与*H.pylori*阳性组中EE发生率的差异具有统计学意义($P = 0.000$).

2.2 *H.pylori*阳性和阴性组中胃窦活检组织中IL-1 β 表达量 *H.pylori*阳性组中胃窦活检组织IL-1 β 表达水平(0.223 $\mu\text{g/g} \pm 0.032 \mu\text{g/g}$)明显高于*H.pylori*阴性组(0.059 $\mu\text{g/g} \pm 0.007 \mu\text{g/g}$) ($P = 0.007$), 而且*H.pylori*阳性组中EE患者(0.167 $\mu\text{g/g} \pm 0.084 \mu\text{g/g}$)的IL-1 β 表达量较非EE者(0.231 $\mu\text{g/g} \pm 0.026 \mu\text{g/g}$)低($P = 0.032$).

2.3 *H.pylori*阳性组中EE与IL-1 β 表达量的相关性 *H.pylori*阳性组中EE严重程度与IL-1 β 表达量呈负相关($n = 39, r = -0.330, P = 0.041$).

3 讨论

*H.pylori*是慢性胃炎和消化性溃疡的主要病因, 是胃癌的危险因素. 根治*H.pylori*可促进溃疡愈合, 明显减少溃疡病的复发. 随着对*H.pylori*研究的深入, GERD与*H.pylori*感染之间的联系成为争论的热点, 目前多数报道认为GERD患者中*H.pylori*感染率低于普通人群和该地区平均*H.pylori*感染率, 且*H.pylori*感染与食管疾病严重程度负相关. 欧洲一项连续10年的观察研究^[4]结果表明, 与自然人群相比, 食管炎或Barrett食管患者*H.pylori*感染率较低. 日本学者的研

究^[5]发现食管炎患者的*H.pylori*感染率远低于对照(24.1% vs 71.2%), 合并Barrett's食管的患者*H.pylori*感染率更低。

*H.pylori*感染对胃酸分泌的影响存在较大差异, 这在很大程度上取决于胃炎的类型和严重程度。*H.pylori*感染的胃黏膜内有许多促炎症因子和抗炎因子表达^[6]。其中IL-1 β 是机体对*H.pylori*免疫炎症反应中最关键的功能细胞因子^[1]。在生理条件下, IL-1 β 还可以调节全部类型的胃黏膜上皮功能, 抑制胃酸的分泌, 并且在调控基因序列上存在多态性, 对*H.pylori*感染后胃黏膜的IL-1 β 表达有显著影响。Ando等^[7]报道IL-1 β 基因型与GERD之间存在联系, 前者可能通过调控胃体萎缩从而发挥对GERD的保护作用。国内研究^[3]证实; IL-1 β 基因多态性与GERD发生有关, 其中IL-1RN*2和IL-1 β -31C/C纯合子基因型是GERD的保护性因素。IL-1 β 基因多态性决定了IL-1 β 表达量。我们通过此次研究发现*H.pylori*阳性组中胃窦活检组织中IL-1 β 表达明显高于*H.pylori*阴性组, 而且*H.pylori*阳性组EE患者的IL-1 β 表达量较非EE者低, 说明*H.pylori*感染后可能通过IL-1 β 表达、降低胃酸的分泌从而减少EE的发生。但仍有部分*H.pylori*阳性者发生EE, 其胃窦组织中IL-1 β 表达相对较低, 提示这一作用可能受到遗传背景和环境因素的双重影响, 前者根据现有资料推测可能与IL-1 β 基因多态性有关, 后者可能与感染的菌株不同相关。

GERD的发病机制复杂, 不同人群感染*H.pylori*后, 其对食管、胃动力及胃酸分泌的影响也各有不同, 宿主因素也参与其中。关于

*H.pylori*与GERD之间的关系尚无定论^[8], 仍需进一步研究证实。

4 参考文献

- 1 El-Omar EM. The importance of interleukin 1beta in Helicobacter pylori associated disease. *Gut* 2001; 48: 743-747
- 2 Queiroz DM, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AM, Santos A, De Oliveira AG, Cabral MM, Nogueira AM, De Oliveira CA. IL1B and IL1RN polymorphic genes and Helicobacter pylori cagA strains decrease the risk of reflux esophagitis. *Gastroenterology* 2004; 127: 73-79
- 3 李煜, 张志广, 闻淑军. 天津地区胃食管反流病患者IL-1 β 基因多态性的研究. *天津医药* 2007; 35: 893-896
- 4 Heikkinen M, Vornanen M, Hollmén S, Färkkilä M. Prognostic significance of antrum-predominant gastritis in functional dyspepsia. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39: 227-231
- 5 Abe Y, Ohara S, Koike T, Sekine H, Iijima K, Kawamura M, Imatani A, Kato K, Shimosegawa T. The prevalence of Helicobacter pylori infection and the status of gastric acid secretion in patients with Barrett's esophagus in Japan. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1213-1221
- 6 Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Kashima K, Imanishi J. Induction of various cytokines and development of severe mucosal inflammation by cagA gene positive Helicobacter pylori strains. *Gut* 1997; 41: 442-451
- 7 Ando T, El-Omar EM, Goto Y, Nobata K, Watanabe O, Maeda O, Ishiguro K, Minami M, Hamajima N, Goto H. Interleukin 1B proinflammatory genotypes protect against gastro-oesophageal reflux disease through induction of corpus atrophy. *Gut* 2006; 55: 158-164
- 8 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

TNF- α 和IL-6在非酒精性脂肪性肝病患者血清中的水平及意义

谢伶俐, 周力, 李丽滨, 陈晓琴, 张永宏, 杨杰

■背景资料

NAFLD发病率上升, 并且常与代谢综合征相伴发生, 两者已成为威胁人类健康的重要疾病。然而NAFLD的发病机制及其与代谢综合征的内在联系仍未明确。

谢伶俐, 周力, 李丽滨, 陈晓琴, 张永宏, 杨杰, 贵阳医学院附属医院消化内科 贵州省贵阳市 550004

作者贡献分布: 谢伶俐与周力对此文所作贡献均等; 此课题由谢伶俐与周力立题; 设计由谢伶俐与周力完成; 研究过程由谢伶俐、周力、李丽滨、陈晓琴及杨杰完成; 研究用试剂及分析工具由谢伶俐、周力及张永宏提供; 数据分析及论文撰写由谢伶俐完成; 论文修改由周力与李丽滨完成。

通讯作者: 周力, 教授, 550004, 贵州省贵阳市, 贵阳医学院附属医院消化内科。zhouligy@yahoo.com.cn

电话: 0851-6774245

收稿日期: 2010-02-02 修回日期: 2010-04-24

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Significance of serum levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in patients with nonalcoholic fatty liver disease

Ling-Li Xie, Li Zhou, Li-Bin Li, Xiao-Qin Chen, Yong-Hong Zhang, Jie Yang

Ling-Li Xie, Li Zhou, Li-Bin Li, Xiao-Qin Chen, Yong-Hong Zhang, Jie Yang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Correspondence to: Professor Li Zhou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. zhouligy@yahoo.com.cn

Received: 2010-02-02 Revised: 2010-04-24

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the significance of serum levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

METHODS: Fifty-seven NAFLD patients, including 21 patients with simple steatosis, 29 patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and 7 patients with cirrhosis, and 22 healthy control subjects were included in this study. Serum TNF- α and IL-6 levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Body weight index, blood pressure, serum glucose, serum insulin and serum lipids were also measured to assess insulin resistance and

metabolic syndrome complicated with NAFLD. The differences in serum levels of TNF- α and IL-6 between various groups were compared. The association of serum TNF- α and IL-6 levels with homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and the risk of metabolic syndrome was analyzed.

RESULTS: The levels of serum TNF- α and IL-6 significantly increased in patients with simple steatosis, NASH and cirrhosis compared with normal subjects (all $P < 0.05$). The levels of serum TNF- α and IL-6 were significantly higher in NASH patients than in patients with simple steatosis or cirrhosis (both $P < 0.05$). A significant positive correlation was found between serum TNF- α and IL-6 levels and HOMA-IR ($r = 0.608, 0.709$, both $P = 0.000$). In NAFLD patients complicated with metabolic syndrome, serum TNF- α and IL-6 levels were significantly elevated compared with NAFLD patients without evidence of metabolic syndrome ($P < 0.05$). A significant correlation was also observed between serum TNF- α and IL-6 levels and the risk of metabolic syndrome ($r = 0.409$ and 0.552 ; $P = 0.002$ and 0.000 , respectively).

CONCLUSION: Increased TNF- α and IL-6 production not only plays an important role in the development and progression of NAFLD but also contributes to the development of metabolic syndrome in NAFLD patients by inducing insulin resistance.

Key Words: Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-6; Nonalcoholic fatty liver disease; Insulin resistance; Metabolic syndrome

Xie LL, Zhou L, Li LB, Chen XQ, Zhang YH, Yang J. Significance of serum levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1492-1496

摘要

目的: 探讨肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白介素

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科

-6(IL-6)在非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)患者血清中的水平及意义.

方法: 收集NAFLD组患者57例[包括单纯性脂肪肝21例、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)29例肝硬化7例和正常对照组22例]. 采用ELISA法检测受试者血清TNF- α 和IL-6水平. 同时检查受试者体质量指数、血压、空腹血糖、空腹胰岛素、血脂, 用以计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)和了解合并代谢综合征情况. 比较各组间血清TNF- α 和IL-6水平的变化, 并分析TNF- α 、IL-6水平与胰岛素抵抗指数和代谢综合征发生的关系.

结果: 单纯性脂肪肝、NASH和肝硬化组患者血清TNF- α 、IL-6水平均显著高于对照组($P < 0.05$), 其中以NASH组水平最高, 且显著高于单纯性脂肪肝和肝硬化组($P < 0.05$). 受试者血清TNF- α 、IL-6水平与HOMA-IR均呈显著性正相关($r = 0.608, 0.709$, 均 $P = 0.000$). 合并代谢综合征的NAFLD患者血清TNF- α 、IL-6水平均显著高于不合并代谢综合征的患者($P < 0.05$). 患者血清TNF- α 、IL-6水平与是否合并代谢综合征呈显著性相关($r = 0.409, P = 0.002; r = 0.552, P = 0.000$).

结论: TNF- α 、IL-6通过诱导胰岛素抵抗对NAFLD疾病的发生发展起重要作用, 并有助于NAFLD患者代谢综合征的形成.

关键词: 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-6; 非酒精性脂肪性肝病; 胰岛素抵抗; 代谢综合征

谢伶俐, 周力, 李丽滨, 陈晓琴, 张永宏, 杨杰. TNF- α 和IL-6在非酒精性脂肪性肝病患者血清中的水平及意义. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1492-1496

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1492.asp>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)与代谢综合征密切相关, 胰岛素抵抗是NAFLD和代谢综合征的中心环节^[1]. 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素6(interleukin-6, IL-6)等炎症细胞因子是调节胰岛素抵抗的重要细胞因子^[2-4]. 研究发现, NAFLD患者存在脂肪组织和肝脏的天然免疫功能紊乱, 机体产生过多的TNF- α 、IL-6等致炎细胞因子^[5], 但这些因子与NAFLD疾病本身, 以及与其相伴发的胰岛素抵抗和代谢综合征之间的关系尚不明确. 我们研究NAFLD不同时期患者血清TNF- α 和IL-6水平的变化, 并与胰岛

素抵抗及代谢综合征进行相关分析, 旨在探讨TNF- α 和IL-6在NAFLD发病机制中的作用及意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2008-12/2009-06在本院消化内科、内分泌科住院处及门诊收治的NAFLD患者57例, 其中单纯性脂肪肝21例、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)29例、肝硬化7例, 男26例, 女31例, 年龄 52.75 ± 14.57 岁. 全部病例符合2006年中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组制定的NAFLD诊疗指南中临床诊断及分型标准^[6]. 另收集同期本院体检的健康志愿者22例为正常对照组, 男10例, 女12例, 年龄 48.27 ± 19.36 岁, 并排除2型糖尿病、肥胖、高血压、高脂血症等代谢综合征相关性疾病、肝炎等病史及大量饮酒史. NAFLD组与对照组在性别、年龄等方面的差异无统计学意义. 所有受试者抽血前1 wk未服用抗生素、糖皮质激素、免疫抑制剂、胰岛素增敏剂、降血脂及护肝等药物. 血清TNF- α 和IL-6采用ELISA法进行检测, 试剂盒采用武汉博士德生物工程有限公司进口分装ELISA试剂盒, 两种细胞因子的检测范围分别定为 ≤ 15.6 ng/L和 ≤ 4.69 ng/L. 空腹胰岛素采用放射免疫法检测, 试剂盒采用潍坊三维生物工程集团有限公司放免试剂盒.

1.2 方法

1.2.1 TNF- α 、IL-6检测: 所有受试者清晨空腹抽取5 mL静脉血, 室温凝固2 h, 3 500 r/min离心10 min, 收集血清2 mL, 立即分装后-40 $^{\circ}$ C保存. 血清TNF- α 和IL-6采用ELISA法, 严格按说明书进行检测.

1.2.2 胰岛素抵抗及代谢综合征相关性检测: 检测受试者的身高、体质量、血压、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)及餐后2 h血糖、空腹胰岛素(fasting blood insulin, FBIn)、血脂(三酰甘油和高密度脂蛋白胆固醇), 用于评价胰岛素抵抗程度和代谢综合征合并情况. 胰岛素抵抗程度的确定采用稳态模型评价法(homeostatic model assessment, HOMA), 公式如下: 胰岛素抵抗指数(HOMA-IR) = $(\text{FBG} \times \text{FBIn}) / 22.5$. 代谢综合征诊断采用2004年中华医学会糖尿病学分会建议的诊断标准^[7], 其中体质量指数(BMI) = 体质量(kg)/身高²(m²).

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 计量资料以mean \pm SD表示, 采用Kruskal-Wallis H检验和Mann-Whitney U检验比较组间血

■ 相关报道

以往研究发现NAFLD患者体内炎症细胞因子水平发生显著变化, 但这些炎症细胞因子与胰岛素抵抗及代谢综合征的关系尚不清楚.

■创新盘点

本研究检测NAFLD不同时期患者血清TNF- α 和IL-6水平变化,并与胰岛素抵抗及代谢综合征进行相关分析,结果显示TNF- α 、IL-6可能通过诱导胰岛素抵抗,对NAFLD疾病发生与发展起重要作用,还可能参与NAFLD相关疾病代谢综合征的形成。

表1 各组受试者血清TNF- α 、IL-6和HOMA-IR水平的比较

分组	<i>n</i>	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	HOMA-IR
单纯性脂肪肝组	21	0.138 \pm 0.051 ^{ac}	0.193 \pm 0.089 ^{ac}	3.386 \pm 1.099 ^{abc}
NASH组	29	0.174 \pm 0.041 ^a	0.393 \pm 0.167 ^a	6.738 \pm 2.032 ^a
肝硬化组	7	0.122 \pm 0.027 ^{ac}	0.233 \pm 0.115 ^{ac}	4.869 \pm 1.557 ^{ac}
对照组	22	0.096 \pm 0.024	0.108 \pm 0.049	2.456 \pm 1.517

^a*P*<0.05 vs 对照组; ^b*P*<0.05 vs NASH组; ^c*P*<0.05 vs 肝硬化组。

清TNF- α 、IL-6水平及HOMA-IR的差异,采用Spearman相关分析评价TNF- α 、IL-6水平与HOMA-IR及是否合并代谢综合征的关系,*P*<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NAFLD患者血清TNF- α 、IL-6水平的变化 对NAFLD不同时期及对照组受试者血清TNF- α 、IL-6水平进行比较,结果显示单纯性脂肪肝、NASH和肝硬化组TNF- α 、IL-6水平均显著高于对照组(*P*<0.05),其中以NASH组水平最高,且显著高于肝硬化和单纯性脂肪肝组(*P*<0.05);尽管肝硬化组水平高于单纯性脂肪肝组,但两者差异无统计学意义(*P*>0.05,表1)。

2.2 血清TNF- α 、IL-6水平与胰岛素抵抗程度的关系 对于HOMA-IR,各组间变化趋势与血清TNF- α 、IL-6水平变化趋势相似,但两两比较差异均有统计学意义(*P*<0.05,表1)。进一步相关分析结果显示受试者血清TNF- α 、IL-6水平与HOMA-IR均呈显著性正相关(分别为 $r = 0.608$, $P = 0.000$; $r = 0.709$, $P = 0.000$,图1)。

2.3 血清TNF- α 、IL-6水平与合并代谢综合征的关系 以NAFLD患者作为整体,比较合并代谢综合征的NAFLD患者与不合并代谢综合征的NAFLD患者之间血清TNF- α 、IL-6水平的差异。结果显示合并代谢综合征的NAFLD患者血清TNF- α 、IL-6水平及HOMA-IR均显著高于不合并代谢综合征患者(*P*<0.05,表2)。进一步的相关分析结果显示,NAFLD患者血清TNF- α 、IL-6水平与是否合并代谢综合征显著性相关(分别为 $r = 0.409$, $P = 0.002$; $r = 0.552$, $P = 0.000$,图2)。

3 讨论

NAFLD发病率上升,并且常与代谢综合征相伴发生,两者已成为威胁人类健康的重要疾病。胰岛素抵抗被认为是NAFLD和代谢综合征的中心环节^[1]。炎症细胞因子是影响胰岛素敏感性的

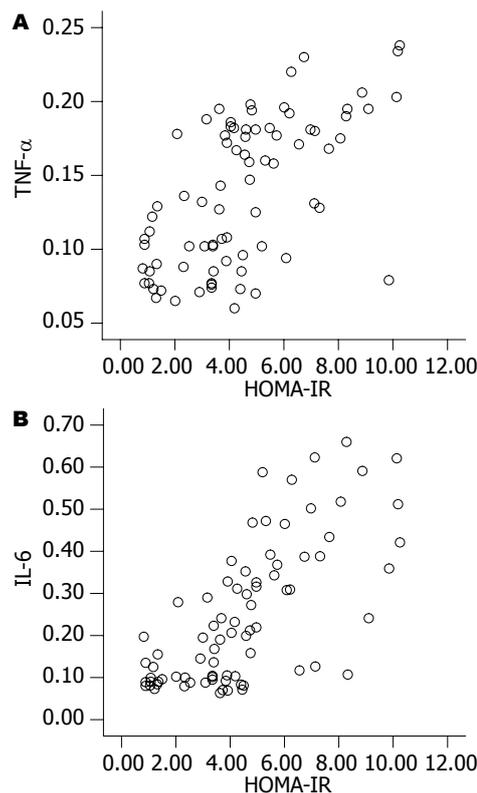


图1 受试者HOMA-IR与血清TNF- α 、IL-6水平的关系。A: TNF- α ; B: IL-6。

重要因素^[2]。近来研究发现,NAFLD和代谢综合征患者体内炎症细胞因子的水平均发生显著变化^[2,5],表明炎症细胞因子可能参与NAFLD疾病的发生与发展。本研究结果显示了NAFLD患者炎症细胞因子水平的变化及其与胰岛素抵抗和代谢综合征的关系,有助于理解NAFLD的发病机制以及该病与胰岛素抵抗和代谢综合征的内在联系。

TNF- α 、IL-6参与NAFLD疾病的发生与发展。TNF- α 和IL-6是重要的致炎细胞因子,主要由巨噬细胞等免疫细胞产生。以往研究证实,NAFLD患者存在脂肪组织和肝脏的天然免疫功能紊乱,脂肪组织和肝脏聚集了异常增多的巨噬细胞^[5],后者是炎症细胞因子的重要来源;另

表 2 合并代谢综合征与不合并代谢综合征的NAFLD患者血清TNF- α 、IL-6和HOMA-IR水平的比较

分组	n	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/L)	HOMA-IR
NAFLD合并代谢综合征	31	0.173 \pm 0.039 ^a	0.384 \pm 0.164 ^a	6.231 \pm 2.062 ^a
NAFLD不合并代谢综合征	26	0.132 \pm 0.048	0.199 \pm 0.099	4.133 \pm 2.027

^aP<0.05 vs NAFLD不合并代谢综合征组.

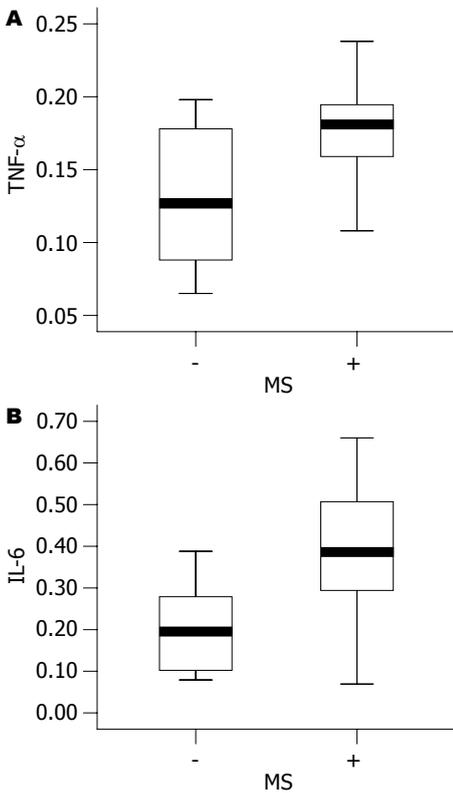


图 2 受试者是否合并代谢综合征与血清TNF- α 、IL-6水平的关系. A: TNF- α ; B: IL-6.

外脂肪细胞和肝细胞也可分泌TNF- α 、IL-6, 后者又可介导巨噬细胞浸润^[8]. 本研究显示, NASH和单纯性脂肪肝患者血清TNF- α 、IL-6水平均显著高于正常对照组, 以NASH组水平最高. 本结果与Hui等^[9]及Wieckowska等^[10]研究结果类似, 表明TNF- α 、IL-6水平升高是NAFLD患者普遍存在的现象. 单纯性脂肪肝患者血清TNF- α 、IL-6水平的升高可能是脂肪代谢紊乱引起致炎细胞因子分泌增多的结果^[2,5], 而NASH患者TNF- α 、IL-6水平达峰值可能与此期肝细胞内NF- κ B等信号通路激活产生大量炎症细胞因子, 以及肝脏发生Th-1极化有关^[2,5]. 另外, 本研究发现肝硬化患者血清TNF- α 、IL-6水平尽管高于对照组, 但却显著低于NASH患者. 以往研究亦报道少数NASH患者发展为肝硬化后, 其肝脏脂肪变性和炎症反应往往减轻或消失. 原因可能

是NAFLD肝硬化的形成还需要其他细胞因子的参与^[5], 如IL-13等Th-2细胞因子可能是诱导肝纤维化的主要因子^[11].

TNF- α 、IL-6诱导的胰岛素抵抗可能是NAFLD疾病发生与发展的重要机制. 研究证实, 胰岛素抵抗是NAFLD的基本特征, 他通过多种直接或间接的机制与NAFLD的发生发展密切相关^[1]. 而炎症细胞因子的分泌变化是影响组织对胰岛素敏感性的重要因素^[2,12]. TNF- α 通过激活NF- κ B或JNK信号转导通路抑制肝细胞胰岛素受体底物1(insulin receptor substrate-1, IRS-1)和胰岛素受体底物2(insulin receptor substrate-2, IRS-2)的磷酸化, 导致肝细胞胰岛素抵抗形成^[13]. IL-6通过诱导细胞因子信号转导抑制因子3(suppressors of cytokine signaling 3, SOCS3)的表达, 促进局部(如肝脏)和系统的胰岛素抵抗^[14]. 本研究进一步发现对照组和NAFLD患者各组间HOMA-IR的变化趋势与两种细胞因子水平的变化趋势相似, 并且TNF- α 、IL-6水平平均与HOMA-IR呈显著性正相关. 这与以往的动物实验及临床调查结果一致^[10,15], 表明TNF- α 、IL-6可能是通过改变胰岛素敏感性在NAFLD疾病发生发展中发挥重要作用.

TNF- α 、IL-6诱导的胰岛素抵抗参与NAFLD患者中代谢综合征的形成. 流行病学调查发现, NAFLD与代谢综合征密切相关; NAFLD发展成肝硬化以及死于肝脏相关并发症的比率较低^[16], 而合并的代谢综合征, 特别是其组分的终末器官严重并发症成为影响NAFLD疾病预后的重要因素^[17]. NAFLD和代谢综合征相关联的机制尚未完全阐明. 尽管胰岛素抵抗被认为是NAFLD和代谢综合征的中心环节, 但其间关系可能互为因果、错综复杂. 本研究发现, 除血清TNF- α 、IL-6水平与胰岛素抵抗程度正相关以外, 合并代谢综合征的NAFLD患者血清TNF- α 、IL-6水平平均显著高于不合并代谢综合征的患者, 并且TNF- α 、IL-6水平与是否合并代谢综合征亦呈显著性相关. 结果表明炎症细胞

■应用要点

本研究突出了TNF- α 和IL-6在NAFLD发病过程中的变化及意义, 使其有可能成为可靠的标志物用于NAFLD严重程度及预后的评估, 或成为有潜力的靶点用于疾病治疗.

■同行评价

本文设计合理,方法可靠,结果有临床意义.

因子可能是NAFLD、胰岛素抵抗和代谢综合征之间的重要联结因子.

总之,我们认为TNF- α 、IL-6通过诱导胰岛素抵抗,不但对NAFLD疾病本身的发生与发展起重要作用,还可能参与NAFLD相关疾病代谢综合征的形成,从而对NAFLD患者的预后产生影响. TNF- α 、IL-6是否可以作为可靠的标志物用于NAFLD严重程度及预后的评估,或成为有潜力的靶点用于疾病治疗,有待进一步研究证实.

4 参考文献

- 1 Abdelmalek MF, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease as a complication of insulin resistance. *Med Clin North Am* 2007; 91: 1125-1149, ix
- 2 Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology* 2007; 132: 2169-2180
- 3 周婷婷, 秦波. 脂肪细胞因子与非酒精性脂肪肝和胰岛素抵抗关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3014-3018
- 4 钱林, 胡小宣. 非酒精性脂肪肝分子发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2848-2852
- 5 Choi S, Diehl AM. Role of inflammation in nonalcoholic steatohepatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 702-707
- 6 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 161-163
- 7 中华医学会糖尿病学分会代谢综合征研究协作组. 中华医学会糖尿病学分会关于代谢综合征的建议. *中华糖尿病杂志* 2004; 12: 156-161
- 8 Marra F, Bertolani C. Adipokines in liver diseases. *Hepatology* 2009; 50: 957-969
- 9 Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF- α or adiponectin? *Hepatology* 2004; 40: 46-54
- 10 Wieckowska A, Papouchado BG, Li Z, Lopez R, Zein NN, Feldstein AE. Increased hepatic and circulating interleukin-6 levels in human nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1372-1379
- 11 Kaviratne M, Hesse M, Leusink M, Cheever AW, Davies SJ, McKerrow JH, Wakefield LM, Letterio JJ, Wynn TA. IL-13 activates a mechanism of tissue fibrosis that is completely TGF- β independent. *J Immunol* 2004; 173: 4020-4029
- 12 谢伶俐, 周力, 李丽滨. 炎症与非酒精性脂肪性肝病. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3118-3122
- 13 Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest* 2008; 118: 2992-3002
- 14 Farrell GC. Signalling links in the liver: knitting SOCS with fat and inflammation. *J Hepatol* 2005; 43: 193-196
- 15 De Taeye BM, Novitskaya T, McGuinness OP, Gleaves L, Medda M, Covington JW, Vaughan DE. Macrophage TNF- α contributes to insulin resistance and hepatic steatosis in diet-induced obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293: E713-E725
- 16 Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129: 113-121
- 17 Jepsen P, Vilstrup H, Mellekjær L, Thulstrup AM, Olsen JH, Baron JA, Sørensen HT. Prognosis of patients with a diagnosis of fatty liver--a registry-based cohort study. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 2101-2104

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发,采用定量评价和定性分析相结合的方法,对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究,得出了65个学术期刊排行榜,其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任:李军亮 2010-01-08)

2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝58例

邸倩

邸倩, 天津医科大学总医院内分泌科 天津市 300052
通讯作者: 邸倩, 主治医师, 300052, 天津市, 天津医科大学总医院
内分泌科. diqian2008@126.com
收稿日期: 2010-03-11 修回日期: 2010-04-30
接受日期: 2010-05-10 在线出版日期: 2010-05-18

Risk factors for type 2 diabetes accompanying nonalcoholic fatty liver: an analysis of 58 cases

Qian Di

Qian Di, Department of Endocrinology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China
Correspondence to: Qian Di, Department of Endocrinology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China. diqian2008@126.com
Received: 2010-03-11 Revised: 2010-04-30
Accepted: 2010-05-10 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To study the risk factors for type 2 diabetes mellitus (DM) accompanying nonalcoholic fatty liver and its relation with metabolic syndrome.

METHODS: Fifty-eight patients with type 2 DM were divided into type 2 DM accompanying nonalcoholic fatty liver group (group A) and simple type 2 DM group (group B). Body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), glycosylated hemoglobin (HbA1C), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL), alanine aminotransferase (ALT), and gamma-glutamyltransferase (GGT) were detected in two groups.

RESULTS: The BMI, SBP, DBP, HbA1C, TC, TG, LDL, ALT, AST and GGT were $25.2 \text{ kg/m}^2 \pm 3.2 \text{ kg/m}^2$, $133 \text{ mmHg} \pm 17 \text{ mmHg}$, $82 \text{ mmHg} \pm 10 \text{ mmHg}$, $5.5\% \pm 1.2\%$, $2.7 \text{ mmol/L} \pm 1.2 \text{ mmol/L}$, $1.2 \text{ mmol/L} \pm 1.2 \text{ mmol/L}$, $33 \text{ mmol/L} \pm 14 \text{ mmol/L}$, and $33 \text{ U/L} \pm 23 \text{ U/L}$, and $33 \text{ U/L} \pm 23 \text{ U/L}$, respectively, in group A, which were higher than those ($21.2 \text{ kg/m}^2 \pm 3.3 \text{ kg/m}^2$, $132 \text{ mmHg} \pm 20 \text{ mmHg}$, $78 \text{ mmHg} \pm 8 \text{ mmHg}$, $8.5\% \pm 2.4\%$, $4.3 \text{ mmol/L} \pm 1.21 \text{ mmol/L}$, 1.2 mmol/L

$\pm 1.1 \text{ mmol/L}$, $1.1 \text{ mmol/L} \pm 1.3 \text{ mmol/L}$, $16 \text{ U/L} \pm 12 \text{ U/L}$, and $15 \text{ U/L} \pm 12 \text{ U/L}$) in group B ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Obesity, hypertension and hyperlipemia are the risk factors for type 2 DM accompanying nonalcoholic fatty liver.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver; Risk factor; Metabolic syndrome

Di Q. Risk factors for type 2 diabetes accompanying nonalcoholic fatty liver: an analysis of 58 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1497-1500

摘要

目的: 研究2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝的危险因素及其与代谢综合征的关系。

方法: 将58例2型糖尿病患者分为2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝组(A组)和单纯2型糖尿病组(B组)。然后对其体质质量指数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、糖化血红蛋白(HbA1C)、总胆固醇(TC)、低密度胆固醇(LDL)、三酰甘油(TG)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和 γ -谷氨酰转移酶(GGT)等临床资料进行分析比较。

结果: A组的BMI、SBP、DBP、HbA1C、TC、TG、LDL、ALT和GGT的水平均高于B组的, 差异有统计学意义($25.2 \text{ kg/m}^2 \pm 3.2 \text{ kg/m}^2$ vs $21.2 \text{ kg/m}^2 \pm 3.3 \text{ kg/m}^2$, $133 \text{ mmHg} \pm 17 \text{ mmHg}$ vs $132 \text{ mmHg} \pm 20 \text{ mmHg}$, $82 \text{ mmHg} \pm 10 \text{ mmHg}$ vs $78 \text{ mmHg} \pm 8 \text{ mmHg}$, $9.6\% \pm 2.3\%$ vs $8.5\% \pm 2.4\%$, $5.5 \text{ mmol/L} \pm 1.2 \text{ mmol/L}$ vs $4.3 \text{ mmol/L} \pm 1.2 \text{ mmol/L}$, $2.7 \text{ mmol/L} \pm 1.2 \text{ mmol/L}$ vs $1.2 \text{ mmol/L} \pm 1.1 \text{ mmol/L}$, $1.2 \text{ mmol/L} \pm 1.2 \text{ mmol/L}$ vs $1.1 \text{ mmol/L} \pm 1.3 \text{ mmol/L}$, $33 \text{ U/L} \pm 14 \text{ U/L}$ vs $16 \text{ U/L} \pm 12 \text{ U/L}$, $33 \text{ U/L} \pm 23 \text{ U/L}$ vs $15 \text{ U/L} \pm 12 \text{ U/L}$, 均 $P < 0.01$).

结论: 肥胖, 高血压, 高血脂等是2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者的相关危险因素。

关键词: 非酒精性脂肪肝; 危险因素; 代谢综合征

背景资料

非酒精性脂肪肝包括一系列肝病, 从脂肪肝(肝细胞脂肪浸润), 非酒精性脂肪性肝炎(脂肪肝合并炎症, 坏死或纤维化)到肝硬化, 有些患者可发展为终末期肝病和肝细胞癌。非酒精性脂肪肝能够促进2型糖尿病的进展及心血管疾病的发病, 因此在一定程度上威胁人类的生命。

同行评议者

郝俊鸣, 副主任医师, 中国康复研究中心北京博爱医院功能检查科

■ 研究前沿

非酒精性脂肪肝目前病因不清,因此,治疗上主要以对症为主,疗效欠佳。非酒精性脂肪肝合并2型糖尿病的发病率高,因此,研究非酒精性脂肪肝与2型糖尿病之间的相互关系成为目前研究的热点。

邱倩. 2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝58例. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1497-1500
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1497.asp>

0 引言

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFL)是一种常见的肝脏疾病,是肝脏内脂肪蓄积过多的一种病理状态,开始为单纯脂肪肝,进而可发展为肝细胞脂肪变性、肝硬化,最终可发展为肝衰竭^[1]。目前有研究认为,NAFL是代谢综合征的一个组成成分,故可将其作为代谢综合征的临床表现之一^[2]。因此,代谢综合征与NAFL的相关性备受临床关注,具有重要的临床意义。本文对2型糖尿病(type 2 diabetes melitus, T2DM)伴NAFL患者的临床资料进行分析,探讨T2DM合并NAFL的危险因素,为临床防治提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 收集T2DM合并NAFL患者58例,男37例,女21例,平均年龄44.4岁±8.3岁,诊断符合WHO 1999年糖尿病诊断标准。B超检查诊断为脂肪肝的诊断标准:肝光点密集,近场回声增强,远场回声衰减;血管结构不清晰;符合NAFL诊断标准^[3]并排除病毒性、药物性、自身免疫性肝炎或饮酒折合乙醇摄入量超标的患者。2型糖尿病不合并NAFL患者45例,男28例,女15例,平均年龄46.2岁±11.2岁,无酗酒史。B超检查无脂肪肝,且乙型肝炎、丙型肝炎病毒标志物阴性。

1.2 方法 收集所有入选患者的临床资料,包括身高、体质指数(BMI)、血压、空腹血糖(FPG)、血脂、肝功能、糖HbA1C、餐后2 h血糖(2 h PG)及肝脏B超检查。三酰甘油(TG)、肝功能均采用酶法检查,总胆固醇(TC)、低密度胆固醇(LDL-C)、高密度胆固醇(HDL-C)采用色相法检查,BMI用体重(kg)/身高(m²)表达。

统计学处理 所有数据均采用SPSS16.0进行统计学分析,检验水准为0.05。各组数据用mean±SD表示,两组间比较采用成组t检验。NAFL与危险因素的关系应用多因素Logistic回归分析。

2 结果

两组患者病程、性别比无明显差别。T2DM合并NAFL组的BMI、DBP、HbA1C、TC、TG、LDL、ALT、GGT明显高于单纯糖尿病组(对照组)的,差异有显著性($P<0.05$,表1)。

以NAFL为因变量,以年龄、性别、病程、BMI、DBP、HbA1C、TC、TG和LDL

为自变量,结果为BMI、TG进入回归方程,提示BMI($OR = 1.232, P<0.01$)和TG($OR = 3.541, P<0.05$)是NAFL的独立危险因素。

3 讨论

在西方国家,NAFL是引起肝酶升高的最常见慢性肝病^[4],其发生率随着肥胖及2型糖尿病患者的增多而呈迅速增长的趋势^[5]。据国内有关文献报道,T2DM合并NAFL发病率为21%-78%^[6]。本组的发病率为56.3%,与文献报道相近。

本研究中,T2DM合并NAFL组的BMI、DBP、HbA1C、TC、TG、LDL水平平均高于对照组的,与文献[7]报道一致。对照组存在胰岛素抵抗(IR)和高胰岛素血症。上述指标均与IR密切相关,提示NAFL与肥胖、糖尿病、血脂异常、高血压、高胰岛素血症和IR等因素密切相关。近来有人认为,NAFL是发生代谢综合征的强有力预测因子^[8]。由于IR是代谢综合征的主要发病机制,因此IR也是发生NAFL的起始因子及中心环节^[9]。发生NAFL时,肝内脂肪堆积。脂肪储存过多的肝脏血脂代谢紊乱。IR与肝细胞内高血糖、胰岛素过多、糖基化终末产物增多、游离脂肪酸及代谢产物增多和氧化应激密切相关^[10]。另外,一系列细胞因子及转录因子也参与NAFL的发病与进展^[11],如瘦素,脂联素,抵抗素,肿瘤坏死因子- α ^[12],脑肠肽与肥胖抑制素^[13]等。本研究中,多因素Logistic回归分析显示,BMI($OR = 1.232, P<0.01$)和TG($OR = 3.541, P<0.05$)是NAFL形成的独立危险因素,与文献[14]报道基本一致。

有研究认为,中心性肥胖是IR的主要形成因素,促进IR的发生与发展,从而促进NAFL的形成。肥胖患者的肌细胞及脂肪细胞中,胰岛素结合受体,受体磷酸化,酪氨酸激酶活性等均受减低。肥胖患者体内脂肪储存过量导致过量的游离脂肪酸(FFA)释放入血,进入其他组织,导致其他组织过量的TG堆积^[15]。NAFL患者血脂代谢异常,FFA增高,IR状态下,TG合成增高,过多脂肪在肝脏异常堆积。增高的TG促进IR及NAFL的进展^[16]。

在本研究中,T2DM合并NAFL组的ALT、GGT均高于对照组,而两组的AST无统计学差异,与文献报道肥胖性脂肪肝患者多为ALT升高相符^[17,18],提示脂肪肝可导致肝细胞变性、炎症及纤维化引起的转氨酶变化。既往研究发现,NAFL患者的血清ALT水平与肝脏IR相关,提示

表 1 两组患者一般状况及生化指标的比较 (mean ± SD)

	T2DM合并NAFL组	对照组	统计量	P值
n	58	45		
性别(男/女)	37/21	28/15	$\chi^2 = 4.633$	<0.05
年龄(岁)	44.4 ± 8.3	46.2 ± 11.2	t = 3.52	<0.01
BMI(kg/m ²)	25.2 ± 3.2	21.2 ± 3.3	t = 14.83	<0.01
SBP(mmHg)	133 ± 17	132 ± 20	t = 2.213	<0.05
DBP(mmHg)	82 ± 10	78 ± 8	t = 4.522	<0.01
HBA1C(%)	9.6 ± 2.3	8.5 ± 2.4	t = 7.754	<0.01
TC(mmol/L)	5.5 ± 1.2	4.3 ± 1.2	t = 10.02	<0.01
TG(mmol/L)	2.7 ± 1.2	1.2 ± 1.1	t = 8.56	<0.01
LDL(mmol/L)	1.2 ± 1.2	1.1 ± 1.3	t = 6.32	<0.01
ALT(U/L)	33 ± 14	16 ± 12	t = 11.28	<0.01
AST(U/L)	17 ± 12	15 ± 13	t = 1.32	>0.05
GGT(U/L)	33 ± 23	15 ± 12	t = 12.34	<0.01

■应用要点

胰岛素抵抗的组分-肥胖, 高血压, 高血脂等是2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者的相关危险因素。因此, 今后如何改善胰岛素抵抗是治疗2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者的重要措施与研究方向。

ALT升高可反映肝脏脂肪的变化。这种变化先于T2DM发生。ALT可作为NAFL的标志物^[19]。Perry等^[20]在对肥胖性脂肪肝患者的追踪研究中发现, GGT水平升高是T2DM合并NAFL的独立危险因素之一, 并认为GGT水平也是反映内脏脂肪、脂肪肝、肝源性IR的可靠指标。本研究结果显示, NAFL的发生与性别无关, T2DM合并NAFL组的年龄低于对照组的, 提示其可能与脂肪肝起病隐匿及T2DM患者越来越年轻化等因素有关。

有研究认为, NAFL不一定是良性病变。肝穿刺结果表明, 10年内约32%发展成肝纤维化, 约20%进展为肝硬化, 约12%因相关肝病死亡^[10]。因此, 应高度重视NAFL的防治, 并及早干预。从本研究结果可看出, 最重要的措施为改善机体IR, 增加胰岛素敏感性。可通过饮食和运动减轻体重。也可用药物干预, 如二甲双胍、噻唑烷二酮类药物等。对于肥胖和T2DM患者应考虑合并NAFL的可能, 及早发现与诊治。

4 参考文献

- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001; 50: 1844-1850
- 中华医学会肝病学会脂肪肝及酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊断标准. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 71
- Torres DM, Harrison SA. Diagnosis and therapy of nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1682-1698
- Charlton M. Nonalcoholic fatty liver disease: a

- review of current understanding and future impact. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 1048-1058
- McCullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 255-262
- Jiang J, Torok N. Nonalcoholic steatohepatitis and the metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* 2008; 6: 1-7
- Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, Kato T, Okuda J, Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 722-728
- Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella MF, Marchesini G. Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Curr Pharm Des* 2010 Apr 6. [Epub ahead of print]
- Raszeja-Wyszomirska J, Mieżyńska-Kurtycz J, Marlicz W, Ławniczak M, Milkiewicz P. [Non invasive markers of non-alcoholic steatohepatitis] *Pol Merkur Lekarski* 2008; 25: 166-170
- Shulman AI, Mangelsdorf DJ. Retinoid x receptor heterodimers in the metabolic syndrome. *N Engl J Med* 2005; 353: 604-615
- Tsochatzis EA, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ. Adipokines in nonalcoholic steatohepatitis: from pathogenesis to implications in diagnosis and therapy. *Mediators Inflamm* 2009; 2009: 831670
- Gutierrez-Grobe Y, Villalobos-Blasquez I, Sánchez-Lara K, Villa AR, Ponciano-Rodríguez G, Ramos MH, Chavez-Tapia NC, Uribe M, Méndez-Sánchez N. High ghrelin and obestatin levels and low risk of developing fatty liver. *Ann Hepatol* 2010; 9: 52-57
- 史轶蘩, 朱惠娟. 降低体重在非酒精性脂肪性肝病防治中的作用. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 112
- Paschos P, Paletas K. Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia* 2009; 13: 9-19
- Cornier MA, Dabelea D, Hernandez TL, Lindstrom RC, Steig AJ, Stob NR, Van Pelt RE, Wang H, Eckel RH. The metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2008; 29: 777-822
- Uslusoy HS, Nak SG, Gülten M, Biyikli Z. Liver histology according to the presence of metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease cases.

■同行评价

本文对58例2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者进行分析,有一定参考价值。

- World J Gastroenterol* 2009; 15: 1093-1098
- 18 Lu H, Zeng L, Liang B, Shu X, Xie D. High prevalence of coronary heart disease in type 2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Arch Med Res* 2009; 40: 571-575
- 19 Zelle DM, Corpeleijn E, van Ree RM, Stolk RP, van der Veer E, Gans RO, Homan van der Heide JJ, Navis G, Bakker SJ. Markers of the hepatic component of the metabolic syndrome as predictors of mortality in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2010; 10: 106-114
- 20 Perry IJ, Wannamethee SG, Shaper AG. Prospective study of serum gamma-glutamyltransferase and risk of NIDDM. *Diabetes Care* 1998; 21: 732-737

编辑 王先林 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》(ISSN 1009-3079, CN 14-1260/R)是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊,每月8、18、28号按时出版.具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行核对, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原创文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章从投稿到刊出4 mo内完成. (编辑部主任: 李军亮 2010-01-18)

血清肝纤维化指标与慢性肝炎肝纤维化程度的相关性

胡兴荣, 崔显念, 胡启托, 陈军

胡兴荣, 湖北省恩施自治州中心医院影像科 湖北省恩施市 445000
崔显念, 湖北省恩施自治州中心医院检验科 湖北省恩施市 445000
胡启托, 湖北民族学院医学院 湖北省恩施市 445000
陈军, 武汉大学人民医院放射科 湖北省武汉市 430060
作者贡献分布: 胡兴荣为此课题的设计者及论文写作的主要完成者; 崔显念参与临床试验及论文写作; 胡启托主要为数据统计分析的完成者; 论文写作指导、审校由陈军完成。
通讯作者: 胡兴荣, 副主任医师, 445000, 湖北省恩施市舞阳大道158号, 湖北省恩施自治州中心医院影像科。
xingrong-hu.cct@126.com
电话: 0718-8290490
收稿日期: 2010-01-21 修回日期: 2010-04-17
接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Correlation between serum fibrosis markers and the degree of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis

Xing-Rong Hu, Xian-Nian Cui, Qi-Tuo Hu, Jun Chen

Xing-Rong Hu, Department of Medical Imaging, Central Hospital of Enshi Autonomous Prefecture, Enshi 445000, Hubei Province, China
Xian-Nian Cui, Department of Clinical Laboratory, Central Hospital of Enshi Autonomous Prefecture, Enshi 445000, Hubei Province, China
Qi-Tuo Hu, College of Medicine, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, Hubei Province, China
Jun Chen, Department of Radiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Correspondence to: Xing-Rong Hu, Department of Medical Imaging, Central Hospital of Enshi Autonomous Prefecture, Enshi 445000, Hubei Province, China. xingrong-hu.cct@126.com
Received: 2010-01-21 Revised: 2010-04-17
Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the relationship between serum fibrosis markers and liver fibrosis stage.

METHODS: Serum hyaluronic acid (HA), laminin (LN), type III procollagen protein (PCIII) and type IV collagen (IV-C) were determined by radioimmunoassay in 113 patients with chronic hepatitis. Liver fibrosis staging was performed to assess the diagnostic value of serum HA, LN, PC III and IV-C.

RESULTS: Serum HA, PCIII and IV-C were

correlated with the degree of liver fibrosis, and the correlation coefficients were 0.677 ($P < 0.01$), 0.395 ($P < 0.05$) and 0.454 ($P < 0.05$) respectively. In contrast, LN was not correlated with the degree of liver fibrosis (correlation coefficient, 0.053; $P > 0.05$). Serum HA, PCIII and IV-C levels rose with the aggravation of liver fibrosis.

CONCLUSION: Serum fibrosis markers have appreciable value in evaluating the degree of liver fibrosis and can be used to diagnose liver fibrosis in hospitals where liver biopsy is difficult to perform.

Key Words: Liver biopsy; Liver fibrosis; Hyaluronic acid; Type III procollagen; Type IV collagen; Laminin

Hu XR, Cui XN, Hu QT, Chen J. Correlation between serum fibrosis markers and the degree of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1501-1503

摘要

目的: 评价血清肝纤维化指标与慢性肝炎肝纤维化程度病理分期的关系。

方法: 采用放射免疫技术对113例慢性肝炎患者的血清进行肝纤维化指标检测, 包括透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、Ⅲ型前胶原蛋白(PCⅢ)、Ⅳ型胶原蛋白(Ⅳ-C)。并按肝穿刺活检进行组织纤维化分期(S), 对这些指标的诊断价值进行分析。

结果: 血清肝纤维化指标HA、PCⅢ、Ⅳ-C与肝组织纤维化程度相关($r = 0.677, 0.395, 0.454, P < 0.01$ 或 0.05)。除LN外($r = 0.053, P > 0.05$), HA、PCⅢ、Ⅳ-C均随着肝纤维化程度的加重而呈上升趋势。

结论: 血清肝纤维化指标对判断肝纤维化程度有一定指导意义, 对于难以开展肝穿刺活检的单位可以帮助肝纤维化诊断。

关键词: 肝活检; 肝纤维化; 透明质酸; Ⅲ型前胶原蛋白; Ⅳ型胶原蛋白; 层粘连蛋白

■背景资料

肝纤维化是诸多慢性肝病发展为肝硬化甚至肝癌的必经病理过程。肝穿刺活体组织病理学检查仍然是肝纤维化诊断的“金标准”, 但由于存在创伤性, 患者依从性差等问题, 临床肝活体组织病理学检查具有较大的局限性, 寻找灵敏度高、特异性好的非创伤性指标, 是肝纤维化诊断研究的一个热点。

■同行评议者

范建高, 教授, 上海交通大学医学院附属新华医院消化内科

■创新盘点

本研究通过血清肝纤维化指标与肝脏病理学进行了对照观察,发现多种指标联合检测,可以提高肝纤维化的临床诊断水平,有助于肝纤维化的非创伤性诊断。

胡兴荣, 崔显念, 胡启托, 陈军. 血清肝纤维化指标与慢性肝炎肝纤维化程度的相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1501-1503

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1501.asp>

0 引言

肝纤维化的早期诊断、早期治疗对于防止慢性肝炎的肝硬化和肝癌的发展尤为重要。我国属HBV感染高流行区,一般人群的HbsAg阳性率为9.09%^[1]。慢性肝炎可发展为肝硬化甚至肝癌,肝纤维化是慢性肝病的共同病理学基础,是硬化的前期表现,在此阶段,其病理过程是可逆的,及时给予有效治疗可减缓或防止发展成为肝硬化。肝纤维化的诊断主要靠组织病理学、影像学及血清学指标,其中病理学是诊断的金标准,因创伤性和局限性而限制了其在临床上的开展,各种以反应解剖结构为主的传统影像学在基于肝纤维化的形态学研究中始终未发现比较敏感的特有的指标,因此,人们一直致力于寻找血清学指标来监测肝纤维化的发展进程。据报道,透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、III型前胶原蛋白(III procollagen protein, PCIII)、IV型胶原蛋白(IV collagen protein, IV-C),对肝纤维化具有良好的诊断价值^[2]。本研究就血清肝纤维化指标与肝脏病理学进行了对照观察。

1 材料和方法

1.1 材料 收集我院2008-05/2009-12在我院门诊或住院的慢性乙型病毒性肝炎患者113例,其中男89例,女24例,年龄17-63(平均35.25±8.51)岁,均符合2005年中华医学会肝病学会分会和中华医学会感染病学分会修订的诊断标准^[1]。

1.2 方法 留取清晨空腹外周静脉血5 mL,分离血清,冻存待检。HA、PCIII、IV-C、LN检测采用放射免疫分析法(RIA)。HA、PCIII、IV-C、LN RIA试剂盒由上海海研医学生物技术中心提供,严格按照说明书操作,GC-1200 γ 放免计数仪为科大创新股份有限公司中佳公司产品。由于肝穿刺活检术是一种创伤性诊断技术,术中、术后可能会出现疼痛或有关并发症,所以在术前给予心理护理,同时告知手术益处及可能的风险,并签署知情同意书。肝穿刺活检用18G肝穿刺针,美国BARD自动活检枪,40 g/L甲醛液固定标本,石蜡包埋,连续切片,HE染色。将肝纤维化程度分为S₀-S₄期。

统计学处理 采用秩和检验和方差分析。

2 结果

2.1 慢性肝炎患者不同肝纤维化分期血清肝纤维化指标的检测 慢性肝炎患者不同纤维化分期的血清HA、PCIII、IV-C水平存在显著性差异,随着纤维化程度加重,其均值升高,而血清LN差异无统计学意义(表1)。

2.2 血清肝纤维化指标与肝组织学纤维化分期相关性比较 肝纤维化分期与血清HA、PCIII、IV-C水平呈显著正相关($r = 0.677, P < 0.01$; $r = 0.395, P < 0.05$; $r = 0.454, P < 0.05$),与LN($r = 0.053, P > 0.05$)无相关性。

3 讨论

肝纤维化是诸多慢性肝病发展为肝硬化甚至肝癌的必经病理过程。目前肝穿刺活体组织病理学检查仍然是肝纤维化诊断的“金标准”,但由于存在创伤性,难以反复取材,患者依从性差以及由于肝脏病变的不均一性而导致的取样误差等问题,临床肝活体组织病理学检查具有较大的局限性^[2]。目前也没有简便、可靠的办法确定肝组织的胶原含量^[3]。因此,寻找灵敏度高、特异性好的非创伤性指标,是肝纤维化诊断研究的一个热点^[4-8]。

HA、PCIII、IV-C、LN都是肝细胞外基质代谢过程中的一部分,都是肝纤维化和基质沉积相关的直接指标,肝纤维化是肝脏弥漫性的、过量的细胞外基质沉积,他是细胞外基质沉积过多或降解不足的直接后果。目前认为PC III是III前胶原分泌到细胞外后被肽酶切下的N端肽,故其水平升高可反映肝脏纤维增生活跃,但他可受肝脏炎症活动指数的影响,在急性肝炎时亦可升高。HA由间质细胞合成,他反映肝脏纤维化活动程度和肝脏损伤程度,有研究显示HA是反映肝纤维化最具价值的血清学标志物^[9]。IV-C、LN为基底膜的主要成分,IV-C是反映肝窦毛细血管化的较好指标, LN血清水平与肝纤维化程度及门脉-肝静脉压力梯度有关^[10]。本研究中HA、IV-C与肝纤维化分期相关性最好,这与以往多数报道一致,再一次说明HA、IV-C是反映肝纤维化严重程度的较可靠指标。除LN外,其余指标血清含量均随着肝纤维化程度的加重而逐渐上升,说明肝纤维化程度越重,血清纤维化指标出现异常的可能性越大。许多研究已证实,血清HA、PCIII、IV-C、LN的含量可反映慢性肝炎肝脏病理损害的程度,是判断慢性肝炎患者肝纤维化的可靠指标^[11]。肝病患者肝组织

■应用要点

本研究联合检测HA、PCIII、IV-C、LN,全部升高对肝纤维化的诊断有意义,有助于肝纤维化的非创伤性诊断。

表 1 肝纤维化分期与HA、LN、PCⅢ、IV-C的关系

肝纤维化分期	n	HA($\mu\text{g/L}$)	LN($\mu\text{g/L}$)	PCⅢ($\mu\text{g/L}$)	IV-C($\mu\text{g/L}$)
S ₀	18	62.72 ± 23.24	97.47 ± 23.41	87.23 ± 24.17	56.59 ± 21.29
S ₁	21	84.29 ± 32.96	111.89 ± 26.35	106.37 ± 25.45	61.70 ± 24.83
S ₂	29	145.46 ± 87.01	115.00 ± 43.14	117.41 ± 28.57	78.93 ± 46.37
S ₃	26	215.36 ± 96.08	128.64 ± 44.30	149.33 ± 37.11	99.65 ± 40.61
S ₄	19	300.05 ± 121.95	129.94 ± 36.36	168.17 ± 34.27	131.17 ± 52.51
F值		25.62	2.699	18.102	20.24
P值		0.0000	0.0573	0.0000	0.0000

■同行评价

本研究设计合理, 符合伦理学要求, 统计方法正确, 数据可靠, 结论客观、真实, 具有一定的临床参考价值。

的炎症活动度与肝纤维化程度呈正相关, 其中HA反映炎症程度较敏感, PCⅢ反映肝纤维化积蓄较敏感^[12], IV-C、LN与肝组织汇管区及小叶内炎症相关, 与肝纤维化程度相平行^[13]。本研究亦证实血清肝纤维化指标与肝脏病理分级、分期呈正相关, 肝纤维化指标水平越高, 肝脏病理损害也较重。

理想的临床诊断指标应具有高度敏感性和特异性, 且简便易行, 患者易于接受, 故寻求无创性诊断肝纤维化的有效方法是目前临床医生关注的问题和热点。因肝纤维化形成与多种因素作用有关, 机制复杂, 所以单一的指标对病情的诊断和疗效的评定是不全面的, 需多种指标联合观察, 联合检测多项指标, 全部升高对肝纤维化的诊断有意义, 可以提高肝纤维化的临床诊断水平。肝组织活检是肝纤维化诊断金标准, 但有局限性, 具有创伤性。因此生化指标和肝组织病理学纤维化程度之间的相关性, 有助于肝纤维化的非创伤性诊断。

4 参考文献

- 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 881-891
- 胡义扬, 刘平, 刘成, 刘成海, 徐列明. 基于肝组织病理动态变化情况探讨血清学指标在肝纤维化诊断中的意义. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 174-177
- Zhang XH, Sun GQ, Zhou XJ, Guo HF, Zhang TH. Basaloid squamous carcinoma of esophagus: a clinicopathological, immunohistochemical and electron microscopic study of sixteen cases. *World J Gastroenterol* 1998; 4: 397-403
- Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Chevret S, Jardel C, Moussalli J, Messous D, Degos F. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepat* 2002; 9: 128-133
- Tangkijvanich P, Kongtawelert P, Pothacharoen P, Mahachai V, Suwangool P, Poovorawan Y. Serum hyaluronan: a marker of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2003; 21: 115-120
- Patel K, Gordon SC, Jacobson I, Hézode C, Oh E, Smith KM, Pawlotsky JM, McHutchison JG. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004; 41: 935-942
- 郑利平, 潘爱萍. 乙肝患者血清学标志物与肝纤维化的关系. 广东医学 2008; 29: 1143-1145
- 崔东来, 姚希贤. 肝纤维化的血清学检测. 世界华人消化杂志 2000; 8: 683-684
- 陆伦根, 曾德明. 肝纤维化的诊断和评估. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 603-604
- 贾继东, 尹珊珊. 肝纤维化的诊断和治疗进展. 临床内科杂志 2002; 19: 244-246
- 周永兴. 现代肝硬化诊断治疗学. 北京: 人民军医出版社, 2000: 14
- 缪国励, 石裕明. 肝脏病理检查与血清肝纤维化指标的关系探讨. 中西医结合肝病杂志 2002; 12: 39-40
- 李新月, 孙燕, 向德栋. 血清Ⅲ型前胶原、Ⅳ型胶原、透明质酸及层粘蛋白对肝纤维化的评估价值. 中西医结合肝病杂志 2002; 12: 235-236

编辑 李军亮 电编 何基才

海藻酸钠微球栓塞治疗术后复发性肝细胞癌40例

李保国, 温浩, 郭志

■背景资料

TAE是不能再手术的复发性HCC首选的非手术治疗方法之一,但明胶海绵、超液化碘油等传统栓塞材料难以实现完全性、彻底栓塞,中长期疗效并不令人满意。

李保国, 温浩, 新疆医科大学第一附属医院肝移植腔镜外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
郭志, 天津医科大学附属肿瘤医院介入治疗科 天津市肿瘤防治重点实验室 天津市 300060
国家科技支撑计划基金资助项目, No. 2007BAI05B06
作者贡献分布: 李保国、温浩及郭志对此文所作贡献均等; 此课题由温浩、郭志及李保国设计; 研究过程由温浩、郭志及李保国共同操作完成; 数据分析由李保国完成; 本论文写作由李保国、温浩及郭志完成。
通讯作者: 温浩, 教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院肝移植腔镜外科, dr_wenhao@163.com
收稿日期: 2010-02-24 修回日期: 2010-04-24
接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Transcatheter arterial embolization therapy of recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy with kelp micro gelation: an analysis of 40 cases

Bao-Guo Li, Hao Wen, Zhi Guo

Bao-Guo Li, Hao Wen, Department of Liver Transplantation and Laparoscopic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Zhi Guo, Department of Interventional Therapy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China

Supported by: the National Key Technology R&D Program of China, No. 2007BAI05B06

Correspondence to: Professor Wen Hao, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. dr_wenhao@163.com

Received: 2010-02-24 Revised: 2010-04-24

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To evaluate the safety and efficacy of transcatheter arterial embolization (TAE) therapy of recurrent hepatocellular carcinoma (HCC) after hepatectomy with kelp micro gelation (KMG).

METHODS: The clinical data for 40 patients who had recurrent HCC after hepatectomy and were treated by TAE with KMG between June 2007 and December 2007 were reviewed retrospectively. The postoperative complications, the incidence of side effects, 1-month tumor necrosis

rate, 1- and 2- year overall survival rates, and prognostic factors in these patients were analyzed.

RESULTS: These patients, including 32 men and 8 women, had a median age of 42 years. All patients were treated on an inpatient basis. Treatment times ranged from 2 to 7. A total of 76 tumor nodules (diameter range, 2-14 cm; average diameter, 4.2 cm) underwent 196 embolization procedures during the 2-year follow-up period. The dose of KMG used in each embolization procedure ranged between 0.2 and 1.2 g. The common adverse reactions after embolization were liver pain (39.8%), fever (35.2%), and nausea and vomiting (34.2%). No severe complications and treatment-related deaths occurred. According to modified RECIST criteria, the response rate at one year was 60% (complete response, 13% complete response; partial response, 47%). The 1- and 2-year survival rates were 85% and 47.5%, respectively.

CONCLUSION: Hepatic artery embolization with KMG is safe and effective in the therapy of postoperative recurrent HCC and can be used as a new option for recurrent HCC.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Transarterial embolization; Kelp micro gelation

Li BG, Wen H, Guo Z. Transcatheter arterial embolization therapy of recurrent hepatocellular carcinoma after hepatectomy with kelp micro gelation: an analysis of 40 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1504-1508

摘要

目的: 评价海藻酸钠微球栓塞(kelp micro gelation, KMG)治疗术后复发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的安全性及有效性。

方法: 回顾性分析2007-06/2007-12以海藻酸钠微球超选择性肝动脉栓塞治疗的40例根治性肝切除术后复发的HCC患者的临床资料, 分析其栓塞治疗后并发症、不良反应的发生率

■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

与1 mo后肿瘤坏死率, 1、2年的总生存率及影响其生存的相关因素。

结果: 男32例, 女8例, 平均年龄42岁, 总共76个肿瘤结节(直径2-14 cm, 平均4.2 cm), 从初次栓塞治疗到治疗后2年共计实施了196例次栓塞, 每例栓塞治疗2-7次, 每次栓塞剂量在0.1-1.2 g。常见的不良反应分别是肝区疼痛(39.8%)、发热(35.2%)和恶心呕吐(34.2%), 无严重并发症和治疗相关的死亡发生。初次栓塞后1 mo, 复查增强CT或MRI并测量肿瘤坏死率, 按照修正的RECIST标准评价: 完全坏死13%(10/76), 部分坏死47%(36/76), 无变化32%(24/76), 进展8%(6/76)。1年、2年生存率分别是85%、47.5%。

结论: 海藻酸钠微球栓塞治疗术后复发性HCC安全、有效, 可作为复发性HCC栓塞治疗时的新选择。

关键词: 肝细胞癌; 肝动脉栓塞; 海藻酸钠微球

李保国, 温浩, 郭志. 海藻酸钠微球栓塞治疗术后复发性肝细胞癌40例. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1504-1508
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1504.asp>

0 引言

经导管选择性肝动脉栓塞术(transcatheter hepatic arterial embolization, TAE)是目前不能手术的中晚期细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的首选非手术治疗手段, 在提高HCC患者的生存率和延长生存期方面起到了非常重要的作用^[1-3]。但不同的栓塞材料阻塞肿瘤血管的程度及栓塞作用持续时间的长短存在着明显差异, 栓塞治疗效果也各不相同。根治性肝切除术后复发性HCC多为富血供的散发肿瘤结节且生血管能力较强, 传统的栓塞材料明胶海绵、碘化油等由于其自身理化特性很难使其实现彻底性永久栓塞, 甚至还可能因为栓塞不完全而诱导新生肿瘤血管生成并促进肿瘤进展, 中、长期治疗效果并不令人满意。海藻酸钠微球栓塞(kelp micro gelation, KMG)是近年来新开发的海藻酸盐类永久性栓塞剂, 用于脾功能亢进、子宫肌瘤等富血供疾病的治疗中已取得了满意的临床疗效^[4,5], 但在根治性肝切除术后复发性HCC中的研究较少。现将我院2007-06/2007-12收治并实施KMG栓塞治疗的复发性HCC病例研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 本组40例根治性肝切除术后复发性

HCC患者, 男32例, 女8例, 年龄28-65(平均年龄42)岁。全部病例经CT或MRI检查发现肝内新病灶, 临床确诊为复发。复发后初次TAE治疗据手术时间为1-35(平均6.4) mo, 中位时间为4 mo初次栓塞治疗前行为状态指数评分(performance status test, PST)≤2分, 肝功能Child-Pugh分级为A级或B级, 无腹水、出血。肿瘤数目不超过3个, 直径(如系多发, 则为全部肿瘤直径之和)为2-14(平均4.1) cm, ≤5 cm的12例, >5 cm的28例, 共76个肿瘤结节, 单发11例, 2个结节的22例, 3个结节的7例; 有远处转移的4例, 无转移36例; TNM分期为I-II期者14例, III期以上者26例。

1.2 方法

1.2.1 治疗: 栓塞治疗前仔细分析CT或MRI检查资料, 明确复发病灶的解剖部位及具体数目。在东芝DFP2000 DSA引导下, 行选择性肝动脉、肠系膜上动脉造影及周围可疑供血动脉分支造影, 再次明确肿瘤数目及供血血管分布, 肿瘤血管直径等; 引入微导管至靶血管, 选择直径100-300 μm和/或350-450 μm的KMG(北京圣医耀科技发展有限公司生产, 每瓶1.0 g, 不透X线), 以生理盐水200 mL分3次漂洗去除KMG表面的固定液后, 再加入生理盐水10 mL及造影剂碘普罗胺20 mL(拜耳先灵公司生产)混合, 使其悬浮于该混合液中。在透视的严密监视下分别进行缓慢栓塞, 监控时发现血管完全闭塞或返流时即刻终止栓塞并再次随访造影。

1.2.2 术后处理及随访: 栓塞治疗后常规给予保肝、预防性抗炎治疗, 有不良反应者给予对症处理。术后1 mo结合术前检查使用方法, 复查相应的CT或MRI平扫及增强检查, 测量肿瘤坏死率并按照修正的RECIST标准评价疗效、确定下一步治疗时间, 病情进展者改用支持治疗。观察期间以电话随访, 均随访至初次栓塞治疗后2年或出现死亡。

统计学处理 采用SPSS16.0软件进行统计分析, 以Log-Rank检验单因素对患者生存率的影响, 以COX比例风险模型分析多因素对生存预后的影响。

2 结果

40例患者, 初次接受栓塞治疗时总共76个肿瘤结节(直径2-14 cm, 平均4.1 cm), 随访满2年时共计实施了196例次栓塞治疗, 每例治疗次数在2-7次之间, 每次栓塞剂量为0.1-1.2 g, 无治疗相关死亡。随访终止日期为2009-12, 无失访患者。

■ 研发前沿

大量循证医学研究证据认为采用能够与肿瘤血管适形的持久性栓塞材料进行栓塞是提高TAE疗效的关键。探索栓塞治疗复发性HCC的新型有效的栓塞材料是目前临床广泛关注的问题。

■相关报道

刘兆玉等分别报道了KMG应用于子宫肌瘤及脾功能亢进等富血供疾病的栓塞治疗中并取得了满意的临床疗效。

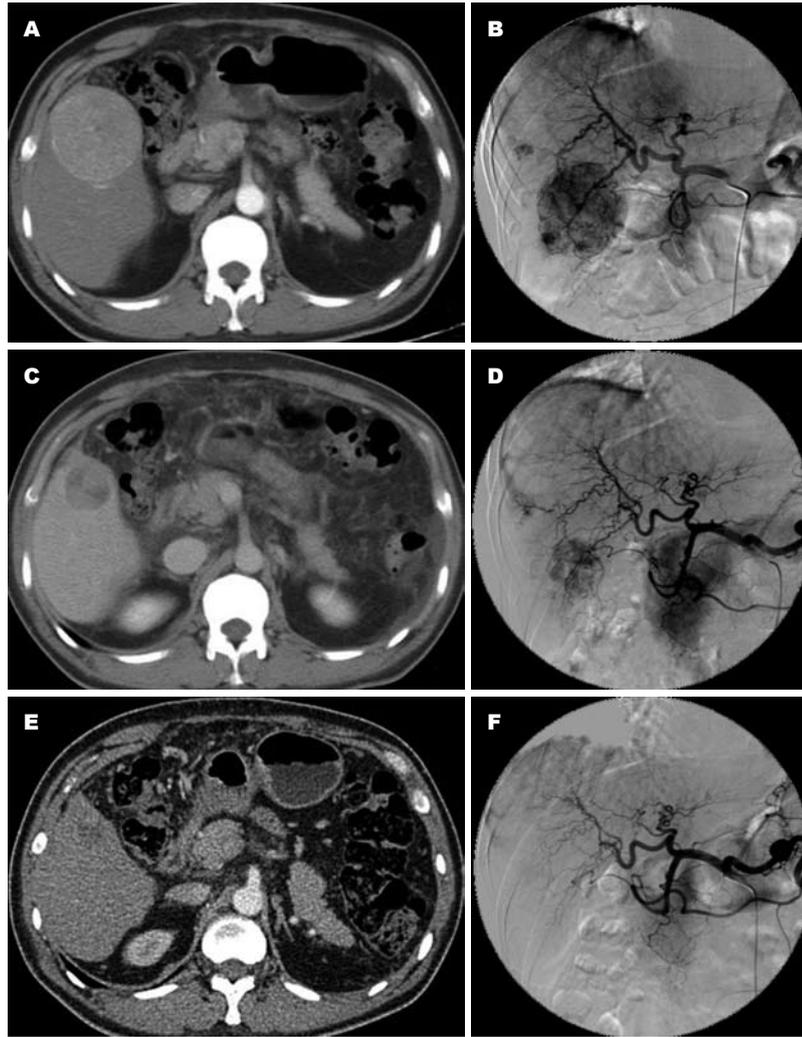


图1 海藻酸钠微球栓塞治疗复发性HCC前后CT及DSA造影表现变化. A: 肝细胞肝癌术后1年, 复查CT见肝右叶明显强化的8 cm×8 cm大小复发病灶; B: DSA造影可见巨块型肿瘤染色, 血供丰富; C: 同一患者, 3次KMG栓塞治疗后, 强化CT示复发肿瘤明显缩小至4 cm×3 cm大小; D: DSA造影可见肿瘤染色变淡, 血供减少; E: 同一患者, KMG栓塞治疗后2年随访, 强化CT显示复发肿瘤完全性坏死; F: DSA造影随访未再显示明显肿瘤血管.

表1 196例次海藻酸钠微球栓塞治疗复发性肝细胞肝癌的常见不良反应^[7]

不良反应	无	轻度	中度	重度	总发生率(%)
疼痛	118	42	28	8	39.8
发热	127	19	47	3	35.2
恶心、呕吐	129	45	17	5	34.2

2.1 不良反应 196例次栓塞治疗后常见的不良反应主要是肝区疼痛、发热和恶心呕吐(表1). 对症处理后大多数均在1 wk内快速缓解, 少数患者持续至2 wk左右.

2.2 肝功能变化 本组病例在栓塞治疗后1 wk及1 mo复查时76%患者肝功能较术前无明显变化, 24.0%患者出现肝功能损害表现, 其中轻度损害约占78.7%, 中度损害约占20%, 仅1例合并重度肝功能损害保肝、支持治疗2 wk后好转.

2.3 肿瘤大小变化 本组病例按照修正的RECIST标准在初次栓塞治疗后1 mo复查CT或MRI测量肿瘤坏死率时, 完全坏死13%(10/76), 部分坏死

(坏死≥50%)占47%(36/76), 无变化(坏死<50%或进展≤25%)占32%(24/76), 进展(肿瘤增大>25%)占8%(6/76). 至随访结束时, 现存的典型病例复查强化CT及DSA造影时可见肿瘤明显坏死缩小, 瘤体供血血管分支消失(图1).

2.4 生存获益 至随访结束时, 19例存活, 21例死亡, 1年、2年生存率分别达85%、47.5%. 死亡原因中, 与肝癌进展和转移相关的有14例, 与基础肝病相关的有4例, 2例为上消化系大出血, 另外1例则因继发肺部感染死亡. 单因素分析结果表明, TNM分期、肝功能分级、瘤体直径、是否合并远处转移等是影响KMG栓塞治疗术后复发性HCC预后的相关因素($P<0.05$). COX比例风险模型多因素生存分析结果显示, 初次治疗前的TNM分期是影响KMG栓塞治疗生存预后的独立因素($P=0.02$, RR: 0.232, 95%CI: 0.066-0.811).

3 讨论

HCC术后的高复发率与复发后难以有效治疗是

目前肝癌临床亟待解决的问题之一^[6-8]。研究证实, 原发性HCC, 即使是非常早期的小肝癌(直径<2 cm), 在根治性肝切除或肝移植术后5年复发率仍可高达50%以上, 且复发后的HCC常因为呈多中心生长、进展较快或伴有血管侵犯等而失去再手术或消融治疗机会, 预后较差^[9]。传统的放化疗治疗不仅不良反应大, 治疗效果也不佳, 目前已很少应用。近年的研究发现, 栓塞治疗复发性HCC有一定的疗效, 能够在短期内快速控制病灶进展, 而且肿瘤血管栓塞越完全、持续时间越长久, 肿瘤坏死就越彻底、患者的生存期也越长^[10,11]。但研究也发现, 栓塞治疗同手术、消融治疗等方法一样, 其疗效会受到一些影响因素的制约, 如肿瘤自身的血管丰富程度、栓塞材料与肿瘤血管内腔的适形能力以及栓塞作用持续时间的长短、是否超选择性栓塞等, 其中, 栓塞材料的影响作用最为突出。

HCC为富血供肿瘤, 理论上来说, 能够完全充填不同直径的肿瘤血管管腔且降解时间较长的栓塞材料最适宜于栓塞治疗。但实际上常用的栓塞剂中很少能兼备既彻底栓塞又长久栓塞的特点, 使得不同栓塞材料应用于HCC治疗时疗效上存明显的差异^[12]。明胶海绵与自体血凝块均属于小动脉栓塞水平的临时栓塞剂, 其颗粒或粉末形态不均一, 降解速度快, 难以持久性栓塞。无水乙醇属于毛细血管水平的栓塞剂, 有可能实现完全性栓塞, 但栓塞效果具有剂量依赖性, 较大的肿瘤在增加剂量时患者常不能耐受。碘化油作用时间短、低黏度、易流动, 需要反复多次栓塞才能达到治疗目的, 对于术后快速复发的HCC患者, 疗效有限^[13]。PVA是目前普遍认可的永久性或半永久性栓塞剂, 栓塞后持续时间较长也可获得较好的坏死范围, 但价格较昂贵, 术后疼痛发生率较高、程度较重。弹簧圈则一般只适用于一些大血管栓塞或阻断异常分流, 临床应用较少。有关不同栓塞剂之间疗效比较的对照研究较少, Brown等^[14]的研究证实, PVA与明胶海绵栓塞治疗同质的HCC患者时, 虽然在生存率上无显著差异, 但PVA组因栓塞作用持久所需要的栓塞次数明显少于明胶海绵组, 是更适合HCC的治疗选择。

复发性HCC的肿瘤血管同正常肝组织血管分支有着明显的不同, 更加迂曲和容易建立侧支循环, 普通栓塞材料栓塞治疗难度较大。KMG具有形态均一、无抗原性、生物相容性好, 降解时间长等优点, 进入血液后可迅速膨胀并嵌

顿在靶血管的部位, 中断肿瘤血供持续时间较长、阻塞更完全, 应用于复发性HCC中应较普通栓塞材料更为理想。

本研究结果证实, KMG在复发性HCC中的治疗效果令人满意。术后1 mo内, 近60%的患者术后无任何不适。部分患者虽然出现了肝区疼痛、发热及胃肠道反应, 但持续时间均较短, 重度疼痛和高热比例也较低, 对症治疗后多能快速缓解; 仅有1例合并了重度肝功能损害, 也在保肝支持治疗2 wk后恢复至正常; 这说明了应用海藻酸钠超选择性栓塞治疗复发性HCC是安全的。术后1 mo时复查时肿瘤坏死率测定, 完全坏死占13%, 坏死范围超过50%的占60%, 进展的仅占8%。至随访结束时, 患者的1年、2年总生存率分别达85%、47.5%, 明显优于碘油等传统栓塞剂的治疗效果^[13], 甚至接近小肝癌的单纯消融疗效^[15,16]。这也提示我们, KMG作为一种新型栓塞剂, 有可能在改善不能手术治疗的HCC患者的生存预后上发挥重要作用。

生存分析的结果也进一步显示了KMG栓塞治疗复发性HCC时, 有着明确的生存获益。TNM分期在I期或II期的采用KMG栓塞治疗后其2年生存率可达78.6%, III期以上的可达30.8%, 显著增加了肝切除术后复发性HCC的生存获益。随访过程中影像学检查还发现, DSA造影时肿瘤供血血管分支越少坏死范围越大, 少数早期复发的HCC如果有明确供血分支即使血供不太丰富, 栓塞治疗后也有较好的治疗反应。这可能与KMG具有较好的血管管腔的适形能力, 并能够在细小动脉水平上最大限度地阻断肿瘤供血血管有关。

总之, KMG作为一种新型的永久性的栓塞剂, 初步研究结果显示其在术后复发性HCC的栓塞治疗安全、有效, 既能在短期内快速降低肿瘤负荷又可提高患者的中长期总生存率, 不良反应能够接受, 可作为复发性HCC栓塞治疗时的新选择。由于本研究样本量和观察时间有限, 对于KMG与放射微球等其他栓塞剂之间的差异比较, 以及KMG栓塞联合其他治疗技术如射频消融或降期后部分肝切除生存获益情况是否会更好, 还需要进一步的大样本、多中心随机对照研究来证实。

4 参考文献

- 1 Choi JW, Park JY, Ahn SH, Yoon KT, Ko HK, Lee do Y, Lee JT, Kim KS, Choi JS, Han KH, Chon CY, Kim do Y. Efficacy and safety of transarterial

■应用要点

KMG应用于术后复发性HCC的栓塞治疗中疗效优于传统栓塞材料, 能进一步改善术后复发性HCC的生存预后, 可作为栓塞治疗时的新选择。

■同行评价

本研究显示海藻酸钠微球应用于肝癌TAE治疗,可获得较好的效果,对临床应用有一定参考价值。

- 2 Zhong C, Guo RP, Li JQ, Shi M, Wei W, Chen MS, Zhang YQ. A randomized controlled trial of hepatectomy with adjuvant transcatheter arterial chemoembolization versus hepatectomy alone for Stage III A hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135: 1437-1445
- 3 Molinari M, Kachura JR, Dixon E, Rajan DK, Hayeems EB, Asch MR, Benjamin MS, Sherman M, Gallinger S, Burnett B, Feld R, Chen E, Greig PD, Grant DR, Knox JJ. Transarterial chemoembolisation for advanced hepatocellular carcinoma: results from a North American cancer centre. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2006; 18: 684-692
- 4 刘兆玉, 单明, 卢再鸣, 郑加贺, 张军, 孙巍. 海藻酸钠微球颗粒子宫动脉栓塞治疗子宫肌瘤的疗效分析. *中国临床医学影像杂志* 2006; 17: 12-14
- 5 孙伟, 周纯武, 李忱瑞. 海藻酸钠微球栓塞剂在肿瘤治疗中的应用现状. *癌症进展* 2009; 7: 52-55
- 6 Choi GH, Kim DH, Kang CM, Kim KS, Choi JS, Lee WJ, Kim BR. Prognostic factors and optimal treatment strategy for intrahepatic nodular recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 618-629
- 7 丁义涛. 肝细胞癌的肝脏切除治疗进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 955-961
- 8 Kawano Y, Sasaki A, Kai S, Endo Y, Iwaki K, Uchida H, Shibata K, Ohta M, Kitano S. Prognosis of patients with intrahepatic recurrence after hepatic resection for hepatocellular carcinoma: a retrospective study. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35: 174-179
- 9 Yang LT, Cheng XD, Du YA, Wang XB, Zhang YL, Guo JM. [Prognostic factors and outcome in patients with intrahepatic recurrence after hepatectomy for hepatocellular carcinoma] *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2009; 31: 612-616
- 10 Shim JH, Kim KM, Lee YJ, Ko GY, Yoon HK, Sung KB, Park KM, Lee SG, Lim YS, Lee HC, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Complete necrosis after transarterial chemoembolization could predict prolonged survival in patients with recurrent intrahepatic hepatocellular carcinoma after curative resection. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 869-877
- 11 梁斌, 郑传胜, 冯敢生, 王勇, 赵辉, 夏向文. 经导管动脉栓塞对肝癌血管生成的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2881-2886
- 12 Gomes AS, Rosove MH, Rosen PJ, Amado RG, Sayre JW, Monteleone PA, Busuttill RW. Triple-drug transcatheter arterial chemoembolization in unresectable hepatocellular carcinoma: assessment of survival in 124 consecutive patients. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 193: 1665-1671
- 13 Eguchi S, Matsumoto S, Hamasaki K, Takatsuki M, Hidaka M, Tajima Y, Sakamoto I, Kanematsu T. Re-evaluation of lipiodolized transarterial chemoembolization therapy for intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative liver resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008; 15: 627-633
- 14 Brown DB, Pilgram TK, Darcy MD, Fundakowski CE, Lisker-Melman M, Chapman WC, Crippin JS. Hepatic arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: comparison of survival rates with different embolic agents. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16: 1661-1666
- 15 Shibata T, Isoda H, Hirokawa Y, Arizono S, Shimada K, Togashi K. Small hepatocellular carcinoma: is radiofrequency ablation combined with transcatheter arterial chemoembolization more effective than radiofrequency ablation alone for treatment? *Radiology* 2009; 252: 905-913
- 16 Bouza C, López-Cuadrado T, Alcázar R, Saz-Parkinson Z, Amate JM. Meta-analysis of percutaneous radiofrequency ablation versus ethanol injection in hepatocellular carcinoma. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 31

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)发布 《世界华人消化杂志》2008年影响因子 0.547

本刊讯 中国科学技术信息研究所发布2008年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2 480, 位居1 868种中国科技论文统计源期刊的第100位, 41种内科学类期刊的第6位。2008年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.547, 41种内科学类期刊的第17位。大家最为关注的是《2009年版中国科技期刊引证报告》(核心版)中新增加一个综合评价指标, 即综合评价总分, 该指标根据科学计量学原理, 系统性地综合考虑被评价期刊的各影响力指标(总被引频次、影响因子、他引率、基金论文比、引文率等)在其所在学科中的相对位置, 并按照一定的权重系数将这些指标进行综合集成, 对期刊进行综合评价。《世界华人消化杂志》总分为49.5, 在41种内科学类期刊中排名第8位, 在1 868种中国科技期刊排名第341位。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)

血清瘦素与结直肠癌相关癌基因表达的相关性

黄哲, 沈名扬, 王俊江, 丛进春, 陈春生

黄哲, 沈名扬, 王俊江, 丛进春, 陈春生, 中国医科大学附属盛京医院结直肠肿瘤外科 辽宁省沈阳市 110004

作者贡献分布: 此课题由黄哲与陈春生设计; 研究过程由黄哲、沈名扬、王俊江及丛进春完成; 数据分析由沈名扬完成; 本论文写作由黄哲完成。

通讯作者: 陈春生, 教授, 硕士生导师, 110004, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院结直肠肿瘤外科。

chencs@sj-hospital.org

收稿日期: 2010-01-25 修回日期: 2010-04-22

接受日期: 2010-04-27 在线出版日期: 2010-05-18

Correlation of serum leptin with oncogene expression in colorectal cancer

Zhe Huang, Ming-Yang Shen, Jun-Jiang Wang, Jin-Chun Cong, Chun-Sheng Chen

Zhe Huang, Ming-Yang Shen, Jun-Jiang Wang, Jin-Chun Cong, Chun-Sheng Chen, Department of Colorectal Tumor Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Professor Chun-Sheng Chen, Department of Colorectal Tumor Surgery, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. fengy@sj-hospital.org

Received: 2010-01-25 Revised: 2010-04-22

Accepted: 2010-04-27 Published online: 2010-05-18

Abstract

AIM: To search possible pathways via which leptin participates in colorectal carcinogenesis by analyzing the correlation between serum leptin and oncogene expression.

METHODS: Serum leptin and adiponectin levels were measured by avidin-biotin-peroxidase complex enzyme-linked immunosorbent assay (ABC-ELISA) in 30 colorectal cancer patients and 24 normal controls. The expression of K-ras, P53, adenomatous polyposis coli (APC) and deleted in colorectal carcinoma (DCC) mRNAs in tumor samples was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The correlation between oncogene expression and serum leptin and adiponectin was then analyzed.

RESULTS: The level of serum leptin was significantly higher in APC-positive patients than in APC-negative ones ($3.78 \mu\text{g/L} \pm 1.85 \mu\text{g/L}$ vs

$2.41 \mu\text{g/L} \pm 2.53 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$), and the relative expression level of APC mRNA increased with the increase in serum leptin levels ($P < 0.05$). No significant correlation was noted between serum leptin and the expression of K-ras, P53 and DCC mRNAs in colorectal cancer (all $P > 0.05$).

CONCLUSION: There is a significant correlation between serum leptin level and APC expression in colorectal cancer. No significant correlation is noted between serum leptin level and the expression of K-ras, P53 and DCC mRNAs in colorectal cancer.

Key Words: Colorectal cancer; Leptin; Oncogene

Huang Z, Shen MY, Wang JJ, Cong JC, Chen CS. Correlation of serum leptin with oncogene expression in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(14): 1509-1513

摘要

目的: 研究血清瘦素与结直肠癌突变癌基因的相关性, 探讨其参与结直肠癌发生发展的机制。

方法: 研究对象肿瘤组选择30例结直肠癌患者, 选择24名健康成年人作为对照组。用双抗体夹心ABC-ELISA法测定血清的瘦素水平, 采用RT-PCR方法测定肿瘤标本的癌基因K-ras以及抑癌基因P53、APC和DCC的表达, 对各癌基因表达的差异与血清的瘦素水平做出相关性分析。

结果: 肿瘤APC抑癌基因表达阳性的患者血清瘦素水平要高于表达阴性者($3.78 \mu\text{g/L} \pm 1.85 \mu\text{g/L}$ vs $2.41 \mu\text{g/L} \pm 2.53 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$), 且随着血清瘦素水平的升高APC基因的表达强度也逐渐增加($P < 0.05$), 其余3种癌基因的表达与血清瘦素水平没有明显相关性($P > 0.05$)。

结论: 瘦素参与结直肠癌发生发展的途径与抑癌基因APC的表达有关, 与癌基因K-ras及抑癌基因P53、DCC的表达无关。

关键词: 结直肠癌; 瘦素; 癌基因

黄哲, 沈名扬, 王俊江, 丛进春, 陈春生. 血清瘦素与结直肠癌

背景资料

瘦素与肥胖和胰岛素抵抗密切相关, 其主要功能是调节哺乳动物的食物摄入和能量消耗, 不过近年来发现瘦素在肿瘤的发生、发展中也起着重要作用。

同行评议者

关玉盘, 教授, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科; 黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

■ 研发前沿

瘦素与各种肿瘤的相关性近年来成为研究的热点,多数研究集中在瘦素与各种肿瘤的临床表现型之间的相关性分析,动物实验也是关于瘦素对肿瘤细胞增殖干预的探讨,目前瘦素可能参与肿瘤发生、发展的机制仍不清楚。

相关癌基因表达的相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18(14): 1509-1513

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1509.asp>

0 引言

流行病学调查显示在肥胖人群中癌症的患病风险明显增加^[1,2],其机制目前仍然不清楚.瘦素作为肥胖基因的一种产物,在肥胖人群中明显升高^[3],他被认为是可能与肿瘤发生发展密切相关的一种因素^[4].瘦素是一个16 kDa的细胞因子,他主要调节哺乳动物的食物摄入和能量消耗^[5].虽然瘦素主要由脂肪组织产生,不过近期的研究发现胃、乳腺、结肠以及肝脏等其他组织同样有瘦素的表达^[6-9].离体实验的结果显示瘦素对不同的肿瘤细胞系可以作为一种促有丝分裂的、抗凋亡的和致使肿瘤生成的因子^[10,11],在对结直肠癌的研究中发现瘦素能够刺激肠癌细胞株HT-29的生长、增殖和原癌基因c-fos蛋白的表达,同时干预试验中也观察到,通过提高饮食中的脂肪含量可以引起瘦素浓度升高及脂肪组织的增加,从而导致结肠细胞增生、c-fos蛋白表达和异变腺窝病灶(aberrant crypt foci, ACF)提高,研究认为血清中瘦素浓度与结肠细胞的增生和ACF形成之间有明显的相关性^[12].不过同样的研究, Ealey等的实验研究却发现瘦素在与结肠癌形成密切相关的ACF形成过程中并不起作用^[13].目前在流行病学研究发现血清中的瘦素水平与乳腺癌^[14]和前列腺癌^[15]的发生发展有着密切关系,不过在结直肠癌中的研究结果却充满争议^[16].本研究首先通过酶联免疫方法测定结直肠癌患者血清中的瘦素表达,然后用RT-PCR方法测定相应肿瘤标本的K-ras、P53、APC及DCC突变基因,通过结直肠癌中的血清瘦素水平与肿瘤癌基因的相关性研究来探讨瘦素可能参与结直肠癌发生发展的机制。

1 材料和方法

1.1 材料 实验所用的标本均来自中国医科大学附属盛京医院,肿瘤组选择30例行结直肠癌手术的患者,年龄64.3岁±13.2岁,对照组选择24例在盛京医院体检中未发现肠道疾患的健康成年人,年龄61.2岁±23.5岁。

1.2 方法

1.2.1 标本采集:所有血清标本均取自清晨空腹,肿瘤组患者均取自手术前,研究对象采血前均至少休息30 min,采血后以2 000 r/min离心10 min后

置于-80 °C冰箱保存.入选的肿瘤组患者术前均未接受过化疗、放疗或其他针对肿瘤的治疗,所有的肿瘤标本均为手术中的新鲜标本,采集后直接放入液氮罐中,后转入-80 °C冰箱保存。

1.2.2 血清瘦素水平的测定:所有样本采用双盲法测定,瘦素的水平测定采用双抗体夹心ABC-ELISA法,试剂来自上海森雄科技实业有限公司,重复性板内变异系数<10%,板间变异系数<15%,灵敏度最小可测0.06 μg/L,在492 nm处测吸光度值。

1.2.3 肿瘤标本的癌基因定量分析:从美国国立图书馆Medline基因库检索基因全序列,电脑软件Primer 5.0版自行设计,由上海Invitrogen英骏生物技术有限公司合成引物(表1).PCR循环条件:变性94 °C、40s→退火(温度见表1)、1 min→延伸72 °C、1 min.将含有产物条带的电泳图谱扫入电脑,用凝胶分析软件对条带进行分析,读取其积分吸光度,所得数值与β-actin平均值的比为表达强度,从而对K-ras、P53、APC及DCC表达做出强度分析。

统计学处理 由于数据呈偏态分布,统计中采用非参数检验,用ANOVA来分析肿瘤各癌基因阴阳性表达之间的差异,瘦素与各癌基因的相关性研究采用五分位数法分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

研究中采用RT-PCR对肿瘤的癌基因表达进行强度分析,其中没有癌基因表达的为阴性(图1),K-ras、P53、APC及DCC的阳性率分别为80%、50%、83.3%和73.3%,表达阳性者的强度分别为 0.85 ± 0.29 、 0.87 ± 0.31 、 0.77 ± 0.35 和 0.81 ± 0.28 .其中肿瘤APC表达阳性的患者血清中瘦素水平高于表达阴性表达者($P<0.05$),其他3个癌基因的阴阳性表达的对应血清瘦素水平没用统计学差异(表2).由于结果中的血清瘦素水平呈现偏态分布,在研究中采用五分位数法对瘦素与各癌基因阳性表达强度进行相关性分析,其中APC基因随着血清瘦素水平的升高而表达强度逐渐增加($P<0.05$),其中Q4、Q5的APC表达强度要明显高于Q1、Q2($P<0.05$),而其余各癌基因表达强度与血清中瘦素水平没有明显相关性(表3)。

3 讨论

肥胖可以引起结直肠癌的患病风险增加,与肥胖密切相关的瘦素被认为是促进肿瘤发生发展

表 1 引物序列

基因/内参	引物	长度(bp)	温度(°C)
β-actin	β-actin-F 5'-GTG GGG CGC CCC AGG CAC CA-3'	约498	55.5
	β-actin-R 5'-CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC-3'		
P53	P53-F 5'-GTC TAC CTC CCG CCA TAA-3'	约316	53.0
	P53-R 5'-CAT CTC CCA AAC ATC CCT-3'		
K-ras	K-ras-F 5'-GTG GTA GTT GGA GCT GGT G-3'	约194	50.5
	K-ras-R 5'-TAC TGG TCC CTC ATT GCA-3'		
APC	APC-F 5'-CCA ACA AGG CTA CGC TAT-3'	约126	49.8
	APC-R 5'-CTG CTC GCC AAG ACA AAT-3'		
DCC	DCC-F 5'-ATC CTG CTG TCG TGA GCG-3'	约301	56.2
	DCC-R 5'-CTG CGG AGT GGG TGA GTT-3'		

■ 相关报道

实验室研究发现瘦素能够明显的加快细胞周期、促进细胞增殖从而促进肿瘤发生, 对于结直肠癌同样发现瘦素能够刺激肠癌细胞株 HT-29 的生长、增殖和原癌基因 c-fos 蛋白的表达, 从而促进肿瘤的形成。

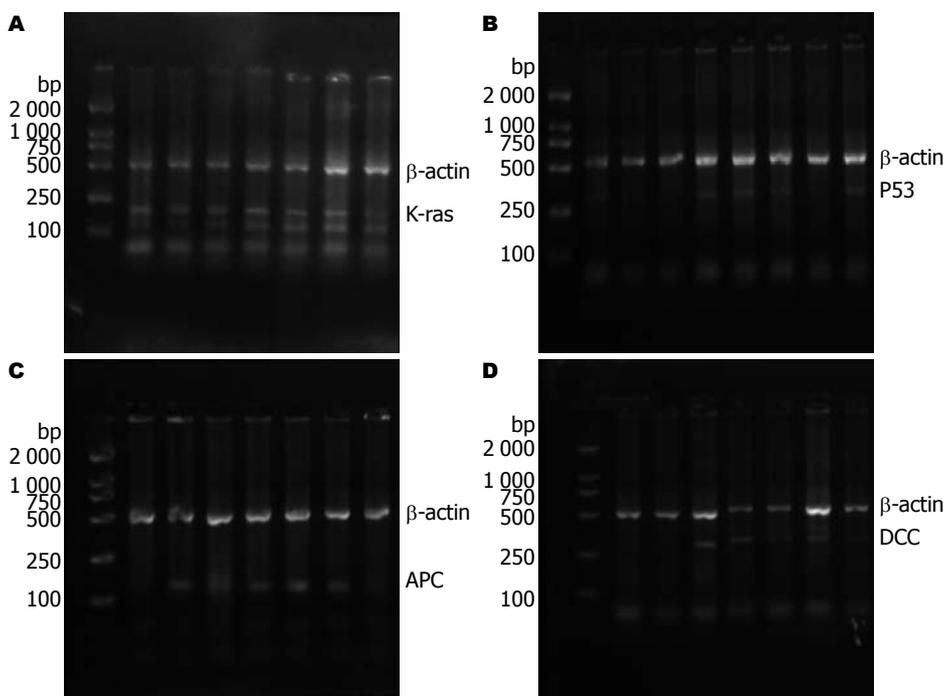


图 1 β-actin 以及各癌基因的 PCR 产物电泳结果. A: K-ras; B: P53; C: APC; D: DCC.

表 2 各癌基因阴阳性表达之间的血清瘦素差异

基因	表达(%)	血清瘦素(μg/L)	P值
P53	阳性(50.0)	3.38 ± 2.31	0.787
	阴性(50.0)	3.77 ± 2.53	
K-ras	阳性(80.0)	3.30 ± 2.05	0.450
	阴性(20.0)	4.73 ± 4.09	
DCC	阳性(73.3)	2.63 ± 2.26	0.353
	阴性(26.7)	4.00 ± 2.32	
APC	阳性(83.3)	3.78 ± 1.85	0.034
	阴性(16.7)	2.41 ± 2.53	

的因素, 不过瘦素到底是直接影响结直肠癌的发生发展, 还是被已经改变的肿瘤所影响, 抑或只是一个无关的旁观者, 这目前仍是一个尚未解决的课题。

对瘦素可能参与结直肠癌机制的研究中主要集中在离体实验中, 仍有争议. Hardwick等^[10]对实验鼠注射鼠重组瘦素, 结果发现结肠上皮增殖较对照组明显增加, 而Chaudhary等^[17]同样对小鼠注射瘦素后却发现上皮的增殖轻度下降. 有学者对瘦素水平升高的肥胖 δ db/db 小鼠和他们无脂肪的同胞仔进行对比研究, 同时予他们以结肠敏感性致癌物氧化偶氮甲烷(AOM)处理, 在5 wk后处死分析结肠的发育异常和早期的新生物病变, 结果显示db/db小鼠比他们的同胞仔出现更多的病变, 提示瘦素是结肠癌的一个启动因子^[18]. 然而在另一项研究中, 予非肥胖 δ 小鼠以瘦素泵入, 在此同时用AOM诱导肿瘤前期 ACF, 结果显示瘦素处理的小鼠出现的ACF要比正常对照组少得多^[19]. 而Ealey等则通过对瘦素

■创新盘点

本研究通过研究血清瘦素与结直肠癌突变癌基因K-ras、P53、APC和DCC表达的相关性,探讨其可能参与结直肠癌发生发展的机制。

表3 血清瘦素五分位数对应的各癌基因的表达强度

基因	瘦素					P值
	Q1(0.66-2.05)(%)	Q2(2.06-3.44)(%)	Q3(3.45-4.83)(%)	Q4(4.84-6.22)(%)	Q5(6.23-7.62)(%)	
K-ras ¹	0.88 ± 0.21(75)	0.73 ± 0.16(77.8)	0.87 ± 0.28(75)	0.76 ± 0.26(80)	0.93 ± 0.19(100)	0.659
P53 ¹	0.87 ± 0.26(25)	0.79 ± 0.27(66.7)	0.76 ± 0.21(50)	0.92 ± 0.18(40)	0.93 ± 0.27(75)	0.541
DCC ¹	0.97 ± 0.30(50)	0.82 ± 0.21(77.8)	0.76 ± 0.17(100)	0.95 ± 0.20(40)	0.76 ± 0.18(75)	0.362
APC ¹	0.53 ± 0.19(50)	0.57 ± 0.21(77.8)	0.75 ± 0.18(87.5)	0.91 ± 0.37(100)	0.97 ± 0.28(100)	0.046

¹括号内为各癌基因表达阳性率。

缺失小鼠的实验研究中认为瘦素在ACF的形成过程中并不起作用^[13]。由于在瘦素与ACF关系的研究中无法达成共识,近期的研究转而集中于离体的肿瘤细胞,其中发现在人类结肠癌细胞HT-29中,瘦素具有促增殖作用,同时能抑制细胞凋亡^[20],在APC基因突变型的结肠上皮细胞中,瘦素能够通过旁分泌和自分泌来促进细胞的增殖^[21],在这些研究中的结肠上皮细胞癌变多采用APC基因突变来诱发,另外对前列腺癌的研究中发现,瘦素能够通过调节P53和Bcl-2的表达来干预肿瘤细胞的生长^[20],故而我们设想瘦素与肿瘤发生发展的关联是不是与这些突变基因有关?

目前对结直肠癌的癌基因研究,公认的4个相关基因分别是癌基因K-ras和抑癌基因P53、APC及DCC,在本研究中,4种基因表达的阳性率分别是80.0%、50.0%、83.3%及73.3%。结果显示APC抑癌基因阳性者对应的血清瘦素水平要明显高于表达阴性者,而且随着瘦素水平的升高的APC基因的表达也逐渐增强,其中Q4、Q5的APC表达强度要明显高于Q1、Q2,这说明在结直肠癌中血清的瘦素水平与肿瘤的APC癌基因表达有明显的相关性。至于是瘦素水平的升高引起APC基因突变的上调,还是APC基因的改变引起瘦素水平的增加,本项研究尚不能提供结果,不过离体实验都是通过对APC基因突变的结肠上皮细胞增加瘦素水平来促进增殖,所以可能是瘦素水平的增加而引起APC基因突变的上调,这需要进行进一步的实验来证明。另外在研究瘦素以及APC基因对肿瘤的作用机制中发现,他们都能引起c-Myc和cyclin D1的转录,从而加快细胞周期、促进细胞增殖促进肿瘤发生^[22-25],这进一步说明了瘦素与结直肠癌的相关性与APC抑癌基因的表达密不可分。至于K-ras、P53、DCC其他3种基因,本研究中未发现与瘦素表达有类似上述的相关性。

本项研究结果提示瘦素的水平与APC基因

的表达有密切关系,而APC是目前已知的唯一发生在结直肠癌整个癌变过程中的基因,尤其在早期的腺瘤样变中,本研究中没有结直肠腺瘤的病例,需要进一步的深入研究。

4 参考文献

- Pan SY, Johnson KC, Ugnat AM, Wen SW, Mao Y. Association of obesity and cancer risk in Canada. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 259-268
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348: 1625-1638
- Sauter ER, Garofalo C, Hewett J, Hewett JE, Morelli C, Surmacz E. Leptin expression in breast nipple aspirate fluid (NAF) and serum is influenced by body mass index (BMI) but not by the presence of breast cancer. *Horm Metab Res* 2004; 36: 336-340
- Garofalo C, Surmacz E. Leptin and cancer. *J Cell Physiol* 2006; 207: 12-22
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432
- Hong SJ, Kwon KW, Kim SG, Ko BM, Ryu CB, Kim YS, Moon JH, Cho JY, Lee JS, Lee MS, Shim CS, Kim BS. Variation in expression of gastric leptin according to differentiation and growth pattern in gastric adenocarcinoma. *Cytokine* 2006; 33: 66-71
- Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, De Johnston J, Lancey ED, Hassink SG, Funanage VL. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1810-1813
- Koda M, Sulkowska M, Kanczuga-Koda L, Surmacz E, Sulkowski S. Overexpression of the obesity hormone leptin in human colorectal cancer. *J Clin Pathol* 2007; 60: 902-906
- Wang SN, Yeh YT, Yang SF, Chai CY, Lee KT. Potential role of leptin expression in hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol* 2006; 59: 930-934
- Hardwick JC, Van Den Brink GR, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ, Peppelenbosch MP. Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2001; 121: 79-90
- Aparicio T, Kotelevets L, Tsocas A, Laigneau JP, Sobhani I, Chastre E, Lehy T. Leptin stimulates the proliferation of human colon cancer cells in vitro but does not promote the growth of colon cancer xenografts in nude mice or intestinal tumorigenesis

- in Apc(Min/+) mice. *Gut* 2005; 54: 1136-1145
- 12 Liu Z, Uesaka T, Watanabe H, Kato N. High fat diet enhances colonic cell proliferation and carcinogenesis in rats by elevating serum leptin. *Int J Oncol* 2001; 19: 1009-1014
- 13 Ealey KN, Lu S, Archer MC. Development of aberrant crypt foci in the colons of ob/ob and db/db mice: evidence that leptin is not a promoter. *Mol Carcinog* 2008; 47: 667-677
- 14 Falk RT, Brinton LA, Madigan MP, Potischman N, Sturgeon SR, Malone KE, Daling JR. Interrelationships between serum leptin, IGF-1, IGFBP3, C-peptide and prolactin and breast cancer risk in young women. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 98: 157-165
- 15 Stattin P, Söderberg S, Hallmans G, Bylund A, Kaaks R, Stenman UH, Bergh A, Olsson T. Leptin is associated with increased prostate cancer risk: a nested case-referent study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1341-1345
- 16 Slattery ML, Wolff RK. Leptin and colorectal cancer: an undefined link. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2007; 4: 118-119
- 17 Chaudhary M, Mandir N, FitzGerald AJ, Howard JK, Lord GM, Ghatei MA, Bloom SR, Goodlad RA. Starvation, leptin and epithelial cell proliferation in the gastrointestinal tract of the mouse. *Digestion* 2000; 61: 223-229
- 18 Hirose Y, Hata K, Kuno T, Yoshida K, Sakata K, Yamada Y, Tanaka T, Reddy BS, Mori H. Enhancement of development of azoxymethane-induced colonic premalignant lesions in C57BL/KsJ-db/db mice. *Carcinogenesis* 2004; 25: 821-825
- 19 Aparicio T, Guilmeau S, Goiot H, Tsocas A, Laigneau JP, Bado A, Sobhani I, Lehy T. Leptin reduces the development of the initial precancerous lesions induced by azoxymethane in the rat colonic mucosa. *Gastroenterology* 2004; 126: 499-510
- 20 Mistry T, Digby JE, Desai KM, Randeva HS. Leptin and adiponectin interact in the regulation of prostate cancer cell growth via modulation of p53 and bcl-2 expression. *BJU Int* 2008; 101: 1317-1322
- 21 Fenton JL, Lavigne JA, Perkins SN, Liu H, Chandramouli GV, Shih JH, Hord NG, Hursting SD. Microarray analysis reveals that leptin induces autocrine/paracrine cascades to promote survival and proliferation of colon epithelial cells in an Apc genotype-dependent fashion. *Mol Carcinog* 2008; 47: 9-21
- 22 He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 1998; 281: 1509-1512
- 23 Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 1999; 398: 422-426
- 24 Dieudonne MN, Machinal-Quelin F, Serazin-Leroy V, Leneveu MC, Pecquery R, Giudicelli Y. Leptin mediates a proliferative response in human MCF7 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 622-628
- 25 Garofalo C, Sisci D, Surmacz E. Leptin interferes with the effects of the antiestrogen ICI 182,780 in MCF-7 breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6466-6475

■同行评价

本文探讨了瘦素与结直肠癌相关癌基因表达的相关性, 对结直肠癌发病机制的相关研究提供了实验依据, 学术价值较好。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

●消息●

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$; 第3套为³ $P < 0.05$, ⁴ $P < 0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应在表的右上方, 表内个数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5)致谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

《世界华人消化杂志》投稿须知

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量,对所有来稿均进行同行评议,是一份被中国科技论文统计源核心期刊、中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(ISSN 1009-3079, CN 14-1260/R)》是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊。OA最大的优点是面向全国本领域专家及公众开放无需注册,免费获取PDF等格式的全文,切实破除了传统性期刊阻碍科学研究成果快速传播的障碍。OA是一项真正意义上的公益性科学传播工具,编委、作者和读者利益的最大化的目标,努力推进本学科的繁荣和发展。

《世界华人消化杂志》定价56.00元,全年2016.00元,邮发代号82-262,由世界华人消化杂志编辑部出版。《世界华人消化杂志》主要报道胃肠病学、肝胆病学、胰腺病学、内镜介入与消化外科等多学科的评论及基础研究和临床实践等各类文章,具体内容涉及:食管疾病,如反流性食管炎、Barret's食管、食管静脉曲张和食管癌等;胃部疾病,胃食管反流性疾病、胃炎、胃动力障碍、胃出血、胃癌和幽门螺杆菌感染等;肠道疾病,如肠道出血、肠穿孔、肠梗阻、肠道炎症(如IBD/CD等)、肠道感染、大肠癌和大肠腺瘤等;肝胆部疾病如病毒性肝炎、肝硬化、脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、胆石病、胆汁郁积、梗阻性黄疸、肝癌、胆囊癌、胆管癌和门静脉高压等;胰腺疾病,如胰腺炎和胰腺癌等;全身性疾病涉及消化系统,如自身免疫性及瘀胆性疾病、腹腔疾病、消化不良和代谢性疾病等;以及与以上疾病相关的基因及基因组学、微生物及分子生物学、病因学、流行病学、免疫学、临床内外科诊断与治疗(如影像、化疗、移植、营养等);除以上外,本刊也报道诊断与筛选、内窥镜检查法、影像及先进技术。

《世界华人消化杂志》被国际检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录。国内为中国科技论文统计与分析期刊(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》(2008年版)内科学类的核心期刊、《中国学术期刊评价研究

报告-RCCS权威、核心期刊排行榜与指南》和中国知识资源总库收录。2008年度《世界华人消化杂志》总被引频次为2480,位居内科学类41种期刊的第6位;影响因子为0.547,位居内科学类41种期刊的第17位。《世界华人消化杂志》即年指标0.059,他引率0.79,地区分布数29,基金论文比0.340,国际论文比0.00,学科影响指标0.59,综合评价总分49.5,位居内科学类41种期刊的第8位。

1.2 栏目 述评,基础研究,临床研究,焦点论坛,文献综述,研究快报,临床经验,病例报告,会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性,重点突出,文字简练,数据可靠,写作规范,表达准确。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式,GB6447文摘编写规则,GB7714文后参考文献著录规则,GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求;同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化,前后统一,如原词过长且多次出现者,可于首次出现时写出全称加括号内注简称,以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准,药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准,国家食品药品监督管理局批准的新药,采用批准的药名;创新性新药,请参照我国药典委员会的“命名原则”,新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称),如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等. 为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上. 中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤). 通常应小写.

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H. pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T_{1/2}, Vmax不能Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如ln-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max} , C_{max} , Vd, $T_{1/2}$ CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家

标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M大写斜体, r小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A大写斜体, r小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-及-后列出. 在±前后均要列出, 如 $37.6\text{ }^\circ\text{C} \pm 1.2\text{ }^\circ\text{C}$, $45.6\text{岁} \pm 24\text{岁}$, $56.4\text{ d} \pm 0.5\text{ d}$. $3.56 \pm 0.27\text{ pg/ml}$ 应为 $3.56\text{ ng/L} \pm 0.27\text{ ng/L}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $1 \times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $1 \times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 $1 \times 10^{-3}\text{ g}$ 与 $5 \times 10^{-7}\text{ g}$ 之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(2009年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2008年版)收录的学术期刊.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-85381901, 传真: 010-85381893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希腊文小写 χ^2 ; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希腊文小写 ν ; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01(*P*>0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01; 第三套为^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1000-1500 kg, 3.5 mmol/L±0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的mean±SD应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg±0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm±0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48→23.5→24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母≤100, 百分数到个位; 101≤分母≤1000, 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1486800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号

分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通

大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所.

3.7 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 P , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1

材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用:^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版. 北京报刊发行局发行, 邮发代号: 82-262.

2010年,《世界华人消化杂志》将坚持开放获取(open access, OA)的出版模式,编辑出版高质量文章,努力实现编委、作者和读者利益的最大化,努力推进本学科的繁荣和发展,向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊:序号,作者(列出全体作者),文题,刊名,年,卷,起页-止页,PMID和DOI编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页。参考文献格式如下:

- 1 Jung EM, Clevert DA, Schreyer AG, Schmitt S, Rennert J, Kubale R, Feuerbach S, Jung F. Evaluation of quantitative contrast harmonic imaging to assess malignancy of liver tumors: A prospective controlled two-center study. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6356-6364 [PMID: 18081224; DOI: 10.3748/wjg.13.6356]
- 2 马连生, 潘伯荣, 马景云. 世界胃肠病学杂志英文版的现状. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 855-863
- 3 Lam SK. Academic investigator's perspectives of medical treatment for peptic ulcer. In: Swabb EA, Azabo S, eds. *Ulcer disease: investigation and basis for therapy*. New York: Marcel Dekker, 1991: 431-450
- 4 尚克中, 陈九如. 胃肠道造影原理与诊断. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995: 382-385

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接,包括首次提交的稿件,同行评议人报告,作者给审稿人回信和作者修回稿,以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见,指出问题与不足;作者也可以随时修改完善自己发表的论文,使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

4 投稿方式

接受在线投稿,不接受其他方式的投稿,如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在

线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28 d。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审,2位或以上通过为录用,否则将退稿或修改后再审。接受后的稿件作者需缴纳稿件处理费及发表费,文章发表后可获得1本样刊及10套单行本(稿酬)。

5 修回稿须知

5.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

5.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删节时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期寄回,所造成的问题由作者承担责任。

5.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期):起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有。

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-8538-1892
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

2010年国内国际会议预告

2010-05-28/31

2010中国普外科焦点问题学术论坛

会议地点: 兰州市

联系方式: 2010fis@gmail.com

2010-06-04/06

2010国际腹部创伤暨第十届全国脾脏外科学术研讨会

会议地点: 合肥市

联系方式: qiaohaiquan2008@yahoo.com.cn

2010-06-04/06

第二届世纪坛国际结直肠肛门病论坛

会议地点: 北京市

联系方式: luoch301@gmail.com

2010-06-17/21

2010年全国肝脏疾病临床学术大会暨欧洲肝病学会日

会议地点: 厦门市

联系方式: zhgz@vip.163.com

2010-07-15/18

第四届地坛国际感染病会议(DICID)

会议地点: 北京市

联系方式: info@bjditan.org

2010-08-18/21

第二十一届世界癌症大会

会议地点: 深圳市

联系方式: bgs@caca.sina.net

2010-08-19/22

第二十二次全国中西医结合消化学术会议

会议地点: 苏州市

联系方式: szzyy88@163.com

2010-09-01

中华医学会第十次全国消化系统疾病学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.csgd.org.cn/2010/>

2010-09-01

第二次肝纤维化、肝硬化学术会议

会议地点: 太原市

联系方式: lijuyi@cma.org.cn

2010-09-08/12

第九届全国介入放射学学术大会

会议地点: 广州市

联系方式: csir2010@163.com

2010-09-09/11

中华医学会第十一次全国感染病学术会议

会议地点: 重庆市

联系方式: infectioncma@163.com

2010-09-10/12

第四届国际肝病学会年会

会议地点: 加拿大, 蒙特利尔

联系方式: info@ilca-online.org

2010-09-16/19

第十三届全国临床肿瘤学大会暨2010年CSCO学术年会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://reg.cSCO.org.cn/reg2010/>

2010-09-21/25

肝脏疾病病理基础及治疗进展

会议地点: 西安市

联系方式: 029-85323924

2010-10-23/27

第十八届欧盟胃肠病周

会议地点: 西班牙, 巴塞罗那

联系方式: <http://uegw10.uegf.org/>

2010-10-28/30

中华医学会第十次全国消化系统疾病学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: yjliu@cma.org.cn

2010-11-17/20

中华医学会糖尿病学分会第十四次全国学术会议

会议地点: 苏州市

联系方式: fredfeng@cma.org.cn

2010-11-18/21

第十四届全国胆道外科学术会议暨2010中国国际肝胆外科论坛

会议地点: 上海市

联系方式: ncbs_cifhbs@126.com

2010-12-02/06

第九届广东省消化内镜学术年会

会议地点: 广州市

联系方式: 020-61641541

2010-12-26/30

肝胆疾病-肝功能衰竭治疗新理念

会议地点: 南京市

联系方式: 025-83106666-66866

志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿),我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力,提高了《世界华人消化杂志》的学术质量,在此表示衷心感谢!

陈光 教授

吉林大学第一医院消化器官外科

陈建杰 主任医师

上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

程斌 副教授

华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科

房静远 教授

上海交通大学医学院附属仁济医院消化内科

傅春彬 主任医师

吉化集团公司总医院一院消化内科

高国全 教授

中山大学中山医学院生化系

巩鹏 教授

大连医科大学附属第一医院普外二科

洪天配 教授

北京大学第三医院内分泌科

金瑞 教授

首都医科大学附属北京佑安医院消化科

蓝宇 教授

北京积水潭医院消化科

刘宝瑞 教授

南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心

刘海峰 教授

武警总医院消化科

刘海林 主任医师

上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

刘平 教授

南京医科大学第一附属医院肿瘤科

邱伟华 副主任医师

上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

沈柏用 副教授

上海交通大学医学院附属瑞金医院肝胆胰外科中心

沈洪 教授

南京中医药大学附属医院江苏省中医院消化科

沈克平 主任医师

上海龙华医院肿瘤五科

孙明军 教授

中国医科大学附属第一医院内镜中心

孙学英 教授

哈尔滨医科大学第一附属医院黑龙江省肝胆外科中心

田颖刚 副研究员

南昌大学中德食品工程中心

王凯 教授

山东大学齐鲁医院肝病科

吴泰璜 教授

山东省立医院肝胆外科

殷正丰 教授

中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

于颖彦 教授

上海交通大学医学院附属瑞金医院器官移植中心病理室

张进祥 副教授

华中科技大学同济医学院附属协和医院急诊外科

张俊 副教授

上海交通大学医学院附属瑞金医院外科

张明辉 副主任医师

河北医科大学第一医院肝病中心

周士胜 教授

大连大学医学院医学研究中心

周伟平 教授

上海东方肝胆外科医院肝外三科